

ZEITSCHRIFT FÜR MORPHOLOGIE UND ÖKOLOGIE DER TIERE

HERAUSGEGEBEN VON

W. E. ANKEL
GIESSEN

P. BUCHNER
PORTO D'ISCHIA
(NAPOLI)

H. J. STAMMER
ERLANGEN

44. BAND

MIT 206 TEXTABBILDUNGEN
UND EINEM PORTRÄT



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

1955/56

HELLMUTH, H., Untersuchungen zur Bakteriensymbiose der Trypetiden (Diptera)	483
KELLNER, W., Untersuchungen zur symbiontischen Bedeutung der Blinddarmflora der Nagetiere	518

7. (Schluß-)Heft *

(Abgeschlossen am 22. März 1956)

SCHNEIDER, H., Morphologische und experimentelle Untersuchungen über die Endosymbiose der Korn- und Reiskäfer (<i>Calandra granaria</i> L. und <i>Calandra oryzae</i> L.). Mit 17 Textabbildungen	555
HUGER, A., Experimentelle Untersuchungen über die künstliche Symbiontenelimination bei Vorratsschädlingen: <i>Rhizopertha dominica</i> F. (Bostrychidae) und <i>Oryzaephilus surinamensis</i> L. (Cucujidae). Mit 16 Textabbildungen	626
Autorenverzeichnis	702

* Die Arbeiten dieses Heftes sind Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER zum 70. Geburtstag gewidmet.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Münster
(Direktor: Prof. Dr. B. RENSCH).

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ÖKÖLOGIE
DER WILDLEBENDEN *DROSOPHILA*-ARTEN WESTFALENS.

Von
BENNO HERTING.

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. November 1954.)

Inhalt.	Seite
I. Einleitung	1
II. Fangtechnik	2
III. Fangplätze	4
IV. Die <i>Drosophila</i> -Fauna des untersuchten Gebietes	6
V. Der Köderfang als Methode ökologischer Beobachtung	8
1. Meteorologische Einflüsse	8
2. Die Köderwirkung	11
3. Vergleich der beiden Köderfangmethoden	13
VI. Der Massenwechsel der <i>Drosophila</i> -Arten und angrenzende Probleme	14
1. Die jahreszeitlichen Unterschiede	14
2. Vergleich der beiden Jahre	17
3. Die Laubfallperiode	18
4. Die Überwinterung	21
VII. Die Biotopverteilung der <i>Drosophila</i> -Arten	22
1. Statistischer Vergleich verschiedener Biotope	23
2. Die Orte der größten Fangzahlen	25
3. Die Biotopverteilung von <i>D. silvestris</i> im Mittelgebirge	27
4. Eine Untersuchung mit der Kübelfangmethode	31
5. Das Habitat der <i>fenestrarum</i> -Gruppe	32
6. Das Vorkommen der <i>quinaria</i> -Gruppe in Gestrüpp-Biotopen	33
VIII. Die Substrate der Larvenentwicklung	35
IX. Feinde und Parasiten von <i>Drosophila</i>	37
X. Diskussion. — Das Artenpaar <i>D. obscura-silvestris</i>	38
Zusammenfassung	40
Literatur	41

I. Einleitung.

Für die Untersuchung rezenter Evolutionsvorgänge sind die Arten der Gattung *Drosophila* ein sehr günstiges Objekt, da ihre genetischen Strukturen besonders leicht zu analysieren sind. Der Vorgang der Rassen- und Artbildung wird jedoch durch Selektion, Genausbreitung und Isolation, d. h. auch durch äußere Bedingungen bestimmt. Um diese Faktoren erfassen zu können, bedarf es einer gründlichen Kenntnis der Ökologie und der geographischen Verbreitung der betreffenden Arten.

Es ist daher in den letzten Jahren in verschiedenen Erdteilen nicht nur genetisch, sondern auch faunistisch und ökologisch über die Gattung *Drosophila* gearbeitet worden. In Europa wurden derartige Untersuchungen bisher in der Schweiz (BURLA 1951), in SW-Europa (HADORN, BURLA, GLOOR und ERNST 1952), in den Niederlanden (LEVER und SOBELS 1951, SOBELS, VLIJM und LEVER, im Druck) und in Schottland (BASDEN 1952) durchgeführt. Im wesentlichen wurden dabei durch Fänge an Obstköder Vorkommen und Häufigkeit der einzelnen Arten in verschiedenen Landschaften und Biotopen festgestellt.

Auf Vorschlag von Herrn Professor B. RENSCH begann ich im Jahre 1951 mit einer ökologischen und faunistischen Arbeit über die wildlebenden *Drosophila*-Arten Westfalens. Das Programm umfaßte unter anderem die folgenden Punkte, die in den vorgenannten Arbeiten keine oder nur geringe Berücksichtigung fanden: 1. Vergleich verschiedenartiger Laubwaldbiotope hinsichtlich der Häufigkeit der einzelnen *Drosophila*-Arten. 2. Genauere Feststellung des jahreszeitlichen Massenwechsels der einzelnen Arten. 3. Netzfänge in verschiedenartiger Bodenvegetation zur Ermittlung der dort sich aufhaltenden *Drosophila*-Arten.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. B. RENSCH, der mich bei der Durchführung dieser Arbeit stets mit Rat und Hilfe unterstützte, möchte ich an dieser Stelle meinen besonderen Dank aussprechen. Durch die Freundlichkeit von Herrn Dr. F. H. SOBELS, Utrecht, konnte ich das noch unveröffentlichte Manuskript über die Verteilung der *Drosophila*-Arten in den Niederlanden einsehen. Auch den Herren Prof. E. HADORN, Zürich, Dr. E. B. BASDEN, Edinburgh, und O. FRYDENBERG, Kopenhagen, schulde ich Dank für wichtige faunistische Mitteilungen, die in der Diskussion verwertet wurden. In pflanzensoziologischen Fragen durfte ich den Rat von Herrn Dr. F. RUNGE, Münster, in Anspruch nehmen.

II. Fangtechnik.

Die *Drosophila*-Fänge wurden in der Regel nicht am offenen Köder (Kübelfangmethode von PATTERSON 1943 und BURLA 1951), sondern mit Hilfe von Trichterfallen durchgeführt. Durch diese Methode war es trotz geringer finanzieller und verkehrstechnischer Mittel möglich, zahlreiche Stichproben in einem ausgedehnten Gebiet vorzunehmen. Die Bauart der von mir konstruierten Trichterfallen zeigt Abb. 1. Sie bestehen aus vier Teilen: 1. einem Papier-Trinkbecher (250 cm³) zur Aufnahme des Köders, 2. einer Verlängerungshülse aus durchsichtigem Zelluloid (Röntgenfilm), die ebenso konisch geformt ist wie der Becher und auf diesen aufgesteckt wird; 3. einem Trichter aus unterseits schwarzem, paraffiniertem Karton, der oben in die Zelluloidhülse eingesetzt wird; seine 4 cm weite untere Öffnung ist mit Gittertüll überklebt, um größere Insekten fernzuhalten; 4. einem flachkegeligen Regendach aus paraffinierter Pappe mit drei Haltefäden. Letztere sind unter dem Dach zu einem Ring geknotet, in den die Falle eingehängt wird, und über dem Dach zu einem Strang vereinigt, mit dem das Gerät an einen Zweig angebunden wird. Die ganze „Fangampel“ wiegt in leerem Zustand etwa 45 g. Durch Ineinandersetzen der gleichen Einzelteile lassen sich derartige Fallen sehr raumsparend ver-

packen und transportieren. Das Einfüllen des Köders und der Zusammenbau geschieht mit wenigen Handgriffen am Fangplatz selbst.

Als Köder dienten in den Monaten Mai—Juli Bananen, vermengt mit einer Aufkochung von Malz, Dörripflaumen und Rosinen, im August und September gemischtes Fallobst, bestehend aus Birnen, Pflaumen und Äpfeln. Der zerquetschten Masse setzte ich in jedem Fall frische Bäckerhefe (je kg etwa 2 g) zu. Die Papierbecher wurden mit Köder ungefähr bis zur halben Höhe gefüllt. In dem zu untersuchenden Biotop wurden normalerweise 5 Fallen in Abständen von jeweils 30—50 m aufgehängt und 6—7 Tage am Ort belassen. Meist besuchte ich auf jeder

Fahrt zwei verschiedene Waldgebiete, so daß in zwei Biotopen gleichzeitig gefangen wurde.

Beim Einholen der Fänge wurden die Tiere stets an Ort und Stelle den Fallen entnommen. und zwar mit Hilfe des in Abb. 2 dargestellten Apparates. Der links abgebildete, in der Weite genau passende Zelluloidzylinder wird über die

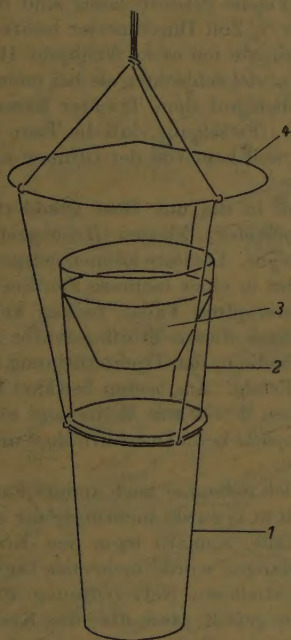


Abb. 1.

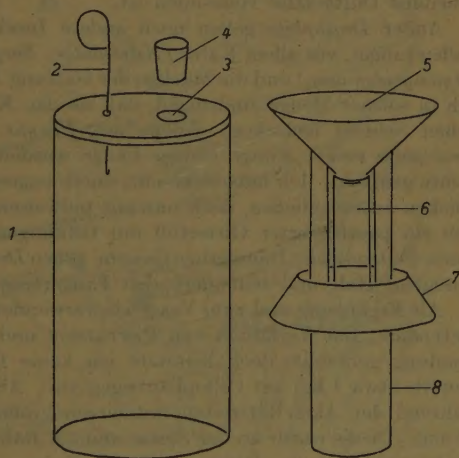


Abb. 2.

Abb. 1. Trichterfalle zum *Drosophila*-Fang. Erklärung im Text.

Abb. 2. Apparat zum Einsammeln der in den Fallen gefangenen Fliegen. (1) Zelluloidzylinder, (2) Drahthaken zum Herausziehen des Trichters, (3) Öffnung mit Gazeschichten zum Eintropfen des Äthers, (4) Verschlusskork, (5) Sammeltrichter, (6) auswechselbares Glasrohr, (7) Führungsring, (8) Handgriff.

Falle geschoben, der Trichter mittels des im Zylinderboden angebrachten Drahtakens herausgezogen und das Ganze in fast waagerechter Lage gegen das Licht gerichtet, so daß die Tiere in den Zylinder einfliegen bzw. durch Klopfen hineingescheucht werden können. Nach Wegnahme der entleerten Falle wird der in Abb. 2 rechts wiedergegebene Teil — im wesentlichen ein Trichter mit auswechselbarem Glasröhrchen darunter — eingeschoben, Äther durch die mit Gazeschichten unterlegte Öffnung im Zylinderboden eingetropft und zugestopft. Nach Eintritt der Narkose kann man das Glasrohr mit den Fliegen herausnehmen und nach Verdunsten des Äthers die nächste Falle leeren. Um unnötige Wartezeiten zu ersparen, benutzte ich zwei dieser Geräte abwechselnd. Im Köder verklebte Fliegen, die in der Falle zurückgeblieben sind, müssen einzeln herausgeholt werden, sofern man Wert darauf legt,

den Fang vollständig zu haben. Ich habe nur im Spätsommer, bei Verwendung des weniger flüssigen Frischobstködors und Fangzahlen über 50 je Becher, auf dies Nachsammeln verzichtet.

Bei einem Vergleich mit der Kübelfangmethode von PATTERSON und BURLA ergaben die Trichterfallen nicht gerade schlechte Resultate (S. 13). BURLA, der in seinem ersten Fangjahr ähnlich konstruierte Fangflaschen verwendete, fand sie jedoch in der Wirksamkeit sehr unterlegen. Vermutlich beruht der bessere Erfolg bei meinen Fangampeln auf der Weite der Trichteröffnung, die mehr Köderduft nach außen dringen läßt. STALKER verwendet (nach SPENCER 1950) Trichter aus feinem Kupferdrahtnetz, die in ihrer ganzen Fläche gasdurchlässig sind und zum Einkriechen der Fliegen eine Öffnung von nur $\frac{1}{4}$ Zoll Durchmesser besitzen. Da mir diese Konstruktion vorteilhaft schien, versuchte ich es im Frühjahr 1953 mit ähnlichen Trichtern. Die Fänge waren indessen viel schlechter als bei meinen normalen Geräten. Mehrmals fand ich Fliegen oben auf dem Trichter sitzend, aber im Innern der Falle nur wenige oder gar keine. Es scheint, daß die Tiere bei diesen Trichtern sehr schwer zum Eingang finden, weil kein von der Öffnung ausgehendes Duftgefälle vorhanden ist.

Außer *Drosophila* gehen noch andere Insekten in die mit Obst geköderten Fallen hinein, vor allem Käfer (*Nitiduliden*, *Staphyliniden*), Fliegen (*Helomyziden*, *Dryomyziden* usw.) und die Mücken der Gattung *Phryne*. Letztere können gelegentlich in solcher Menge eindringen, daß sie den Köder in einer mehrere Zentimeter hohen Schicht bedecken. Solche mit *Phryne* verstopften Fallen fangen keine *Drosophila* mehr. Einige meiner Fänge wurden durch diesen Störungsfaktor zunichte gemacht. Ich habe versucht, durch engere Siebe in der Trichteröffnung die Mücken auszuschließen, doch nur mit teilweisem Erfolg. Am besten bewährt hat sich ein paraffinierter Gittertüll mit Öffnungen von 2×2 mm Weite und etwa 1 mm Fadendicke. Dünnfädige Gewebe geben *Drosophila* beim Durchkriechen nicht genügend Halt und schmälern den Fangertrag.

Als Ergänzung und zum Vergleich verwendete ich nebenher auch andere Fangmethoden. Das Verfahren von PATTERSON und BURLA wurde mehrmals zur Anwendung gebracht, doch benutzte ich keine Gefäße, sondern legte den Köder (jeweils etwa 1 kg) auf Cellophanbogen aus. Abgefangen wurde mehrmals täglich während der Aktivitätszeiten mit einem großen, stiellosen Netz (Öffnung 40×40 cm). Dieses wurde an der Spitze und am Rahmen gefaßt, rasch über den Köderhaufen geklappt, der Rahmen mit den Knien gegen den Boden gedrückt und der Köder durch ruckweises Ziehen an der Cellophanunterlage erschüttert. Die Netzspitze ist dabei stets hoch zu halten, so daß die Tiere im Netz aufwärts fliegen bzw. kriechen können. Sie wurden dann durch einige Netzschläge in das in die Netzspitze eingeklebte Zelluloidröhrchen getrieben und veräthert. Dasselbe Netz verwendete ich auch zu Fängen ohne Köder in Gras, Schilf und Gestrüpp. An Saftflüssen der Bäume versammelte *Drosophila* wurden mit Hilfe von Cellophantüten (SPENCER 1950) abgefangen.

III. Fangplätze.

Abb. 3 zeigt die geographische Lage der 44 Waldgebiete, in denen ich *Drosophila*-Fänge durchführte. Der untersuchte Raum gliedert sich nach Landschaftsform, Geologie und Klima in drei unterschiedliche Teile: 1. das Münsterland, 2. die Hellwegebene und 3. den Arnsberger Wald.

Das Münsterland ist in seinem größeren Teil eine Ebene von 60—80 m Meereshöhe, die jedoch im Westen (Baumberge, Nr. 1—7) und im Süd-

osten (Beckumer Berge, Nr. 20—22) in Hügelland mit höheren Erhebungen (bis 180 m) übergeht. Das Landschaftsbild ist stark aufgegliedert durch mittelgroße bis kleine Waldstücke, Baumgruppen und Wallhecken, die mit Äckern und Weideland wechseln, doch gibt es auch

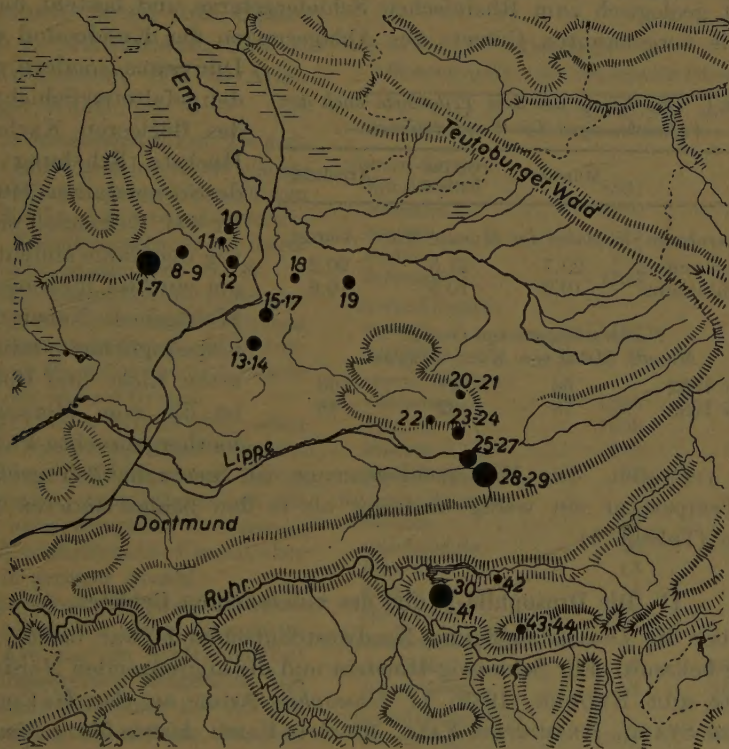


Abb. 3. Karte der Fangplätze. Der Flächeninhalt der Kreise veranschaulicht die Zahl der in dem betreffenden Areal durchgeführten Fänge.

einige große Waldgebiete (Davert, Nr. 13—14, Hohe Ward, Nr. 15—17, Baumberge). Vorherrschende Baumart ist die Eiche. Buchenwälder kommen in den Baumbergen, bei Nienberge (Nr. 10) und bei Beckum (Mackenberg, Nr. 20) vor. Kiefer und Fichte sind dem Gebiet ursprünglich fremd, aber heute, nachdem sie durch die Forstwirtschaft eingeführt sind, besonders auf mageren Böden weit verbreitet. Klimatische Daten sind aus Tabelle 1 zu ersehen.

Die *Hellwegebene*, 80—100 m ü. M. gelegen, ist ein fruchtbares Ackerbaugesbiet und sehr arm an Gehölzen. Die Wälder Nr. 25—27 (Schoneberg) befinden sich in der Nähe der Lippe auf Sandboden, die Plätze Nr. 28—29 (Ostinghausen) dagegen im Lehmgebiet des Emschermergels. Das Gebiet ist klimatisch begünstigt. Es befindet sich bei der

vorherrschenden SW-Wetterlage im Lee des Mittelgebirges und hat infolgedessen weniger Niederschlag und mehr Sonne (etwas höhere Tagesmaxima, Tabelle 1).

Der zwischen Möhne und Ruhr gelegene *Arnsberger Wald* (Nr. 30—44) gehört geologisch zum Rheinischen Schiefergebirge und besteht nicht wie die vorgenannten Gebiete aus Ablagerungen der Kreide und des

Tabelle 1. *Das Klima der drei Teilgebiete nach den Aufzeichnungen der Wetterstationen.*

	Münster	Osting- hausen	Arnsberg
<i>Temperaturen im Mittel der Monate Mai—August</i>			
Tagesmaximum	20.7	21.5	20.2
Tagesminimum	10.9	10.5	10.6
<i>Niederschlagsmenge (mm):</i>			
<i>Monatl. Mittel von März—August</i>			
Jahr 1952	56	47	68
Jahr 1953	78	62	88

Diluviums, sondern aus den gefalteten Schichten des flözleeren Karbon. Höchste Erhebung ist der Stimmstamm (540 m, Nr. 44). Es handelt sich, wie der Name andeutet, um ein fast lückenloses Waldgebiet. Neben den ursprünglichen Baumarten Eiche und Buche ist die vom Menschen hierhergebrachte Fichte

stark vertreten. Die Niederschlagsmenge ist hier erheblich größer, die Temperatur ein wenig niedriger als in den beiden anderen Bezirken (Tabelle 1).

IV. Die *Drosophila*-Fauna des untersuchten Gebietes.

Über die *Drosophila*-Fauna Nordwestdeutschlands war bisher nur wenig bekannt. Für Schleswig-Holstein und die angrenzenden Nordseegebiete gibt KRÖBER (1935) 11 *Drosophila*-Arten an (*busckii* COQU., *confusa* STAEG., *fenestrarum* FALL., *junebris* FABR., *histrion* MEIG., *immigrans* STURT., *melanogaster* MEIG., *obscura* FALL., *phalerata* MEIG., *transversa* FALL. und *tristis* FALL.). Von dieser Liste entfällt *D. confusa* STAEG. als Synonym zu *D. junebris* FABR. (vgl. DUDA 1935). Andererseits sind *D. obscura* FALL. und *D. fenestrarum* FALL. in Wirklichkeit Artkomplexe, die erst durch neuere Untersuchungen in ihre Einzelarten aufgelöst wurden. Für die in obigem Verzeichnis nicht enthaltene *D. limbata* v. ROSER gibt DUDA (1935) einen westfälischen Fundort (Herten) an.

In dem von mir untersuchten Gebiet stellte ich 24 *Drosophila*-Arten fest (Tabelle 2). Es sind in der Tabelle bei jeder Spezies die Anzahlen angegeben, die ich am Obstköder bzw. mit dem Streifnetz fing. Der Unterschied im Ergebnis beider Fangmethoden ist sehr auffällig. Am Köder finden sich vor allem die sehr beweglichen Arten der *obscura*-Gruppe zahlreich ein, die der *fenestrarum*-Gruppe hingegen werden so gut wie gar nicht angezogen (S. 12). Netzfänge sind praktisch nur in der Bodenvegetation möglich; sie erfassen folglich nur diejenigen

Drosophila-Arten, die sich normalerweise in diesem Habitat aufhalten (S. 32 ff.). Beide Methoden leiden also an Einseitigkeit, bei gemeinsamer Anwendung ergänzen sie sich jedoch weitgehend. Insgesamt ergaben die Fänge folgendes Bild von der Häufigkeit und Verbreitung der einzelnen Arten im Gebiet (ML = Münsterland, HE = Hellwegebene, AW = Arnberger Wald):

Tabelle 2.
Gesamtergebnis der *Drosophila*-Fänge.

Art	Am Köder	Mit Netz
<i>obscura</i> -Gruppe:		
<i>subobscura</i>	8301	—
<i>silvestris</i>	5280	—
<i>obscura</i>	1043	—
<i>tristis</i>	222	1
<i>helvetica</i>	1363	—
<i>victoria</i> -Gruppe:		
<i>deflexa</i>	1162	—
<i>rufifrons</i>	4	—
<i>quinaria</i> -Gruppe:		
<i>phalerata</i>	4226	40
<i>kuntzei</i>	1458	2
<i>limbata</i>	149	76
<i>transversa</i>	53	6
diverse Gruppen:		
<i>testacea</i>	127	—
<i>unimaculata</i>	16	—
<i>littoralis</i>	13	1
<i>histrion</i>	4	—
<i>cameraria</i>	1	—
<i>fenestrarum</i> -Gruppe:		
<i>forcipata</i>	6	856
<i>fenestrarum</i>	3	518
eingebürgerte Art:		
<i>immigrans</i>	2392	1
Kulturfolger:		
<i>melanogaster</i>	209	—
<i>funbris</i>	100	—
<i>busckii</i>	37	—
<i>hydei</i>	14	—
<i>repleta</i>	1	—
	26184	1501

D. subobscura COLLIN: Im ganzen Gebiet gemein. Keine eigentliche Waldart, daher in den Fängen mit Trichterfallen schwach vertreten. Kübelfangmethode bei dieser Art weit erfolgreicher (S. 13).

D. silvestris BASDEN („*obscura*-X“ BURLA 1951, Artbeschreibung von BASDEN im Druck): In Eichenwäldern überall im Gebiet häufigste Art der *obscura*-Gruppe.

D. obscura FALLÉN (Syn.: *obscuroides* POMINI, vgl. CAIN und Mitarbeiter 1952): Im ganzen Gebiet vorhanden, aber seltener als die sehr nahe verwandte *D. silvestris*.

D. tristis FALLÉN: Überall, aber nur in geringer Anzahl.

D. helvetica BURLA: ML ziemlich selten, HE häufig bis gemein. Im AW nur im nördlichen Teil (Möhneseegebiet) festgestellt. Die ungleiche Verteilung der Art hat vermutlich klimatische Ursachen (S. 26).

D. deflexa DUDA (Syn.: *guyénoti* BURLA, vgl. HERTING 1935): ML und HE häufig bis gemein, AW ziemlich häufig.

D. rufifrons LOEW (Syn.: *nitens* BUZZATI, vgl. HERTING 1953): Drei Tiere am 1. 6. 52 am Saftfluß einer

Eiche am Platz Nr. 29, ein viertes am 3. 9. 52 in einer Trichterfalle am Platz Nr. 16.

D. phalerata MEIGEN: Überall gemein.

D. kuntzei DUDA: ML und HE meist sehr häufig, AW ziemlich selten.

D. limbata v. ROSER: HE sehr häufig, ML stellenweise häufig, so am Platz Nr. 8/9. Im AW nur ein einziges Tier erbeutet (Möhneseegebiet).

D. transversa FALLÉN: Im ganzen Gebiet vorhanden, aber nur gelegentlich und in geringer Anzahl gefangen. Im AW etwas häufiger als in der Ebene.

D. testacea v. ROSER: Überall, aber nur in geringer Anzahl.

D. unimaculata STROBL: Montane Art. Nur an Waldbächen im AW.

D. littoralis MEIGEN: Häufig am Ufer des Möhnesees, ML und HE sehr vereinzelt.

D. histrio MEIGEN: Je ein Individuum an den Plätzen Nr. 12, 15, 26 und im AW.

D. cameraria HALIDAY (Syn.: *pallida* ZETT. vgl. BASDEN 1952): Ein Männchen am 28. 9. 5 im Birkenbruchwald am Stimmstamm (Nr. 44). Nach BASDEN geht die Art nur selten an den Obstköder.

D. forcipata COLLIN (1952): ML sehr häufig, HE gemein. Im AW nur im nördlichen Teil (Möhneseegebiet) nachgewiesen.

D. fenestrarum FALLÉN: ML und HE häufig bis gemein, auch im AW ziemlich häufig.

D. immigrans STURTEVANT: Eingebürgerte Art. Im Jahre 1952 in allen Waldbiotopen gemein.

Die übrigen 5 im Gebiet gefangenen Arten sind Kosmopoliten, die in der Nähe menschlicher Siedlungen überall verbreitet sind. Sie sind in Wildbiotopen relativ selten.

Als faunistische Besonderheit ist hervorzuheben, daß die Art *D. silvestris* BASDEN im untersuchten Gebiet weit häufiger ist als die verwandte *D. obscura* FALL. Interessant ist ferner das Vorkommen von *D. unimaculata* STROBL, welche bisher nur in der Schweiz, in Österreich und im schlesischen Mittelgebirge festgestellt wurde.

V. Der Köderfang als Methode ökologischer Beobachtung.

Hauptziel der Fänge war es, die Abhängigkeit der Populationsdichte von Umweltsbedingungen für die einzelnen Arten zu analysieren. Nun ist aber die Fangzahl kein exaktes Maß der Populationsdichte. Die Ködermethode nutzt ja die eigene Aktivität der Fliegen für den Fang aus und ist somit von dieser abhängig. Die tatsächlich gemessene Größe ist, mathematisch gesprochen, das Produkt Populationsdichte mal Intensität der Reaktion auf den gebotenen Köder.

Die allgemeine Aktivität und Disposition der Fliegen wird in erster Linie durch die Witterungsverhältnisse bestimmt. Die Reaktion speziell auf den Köder ist von dessen qualitativem Zustand abhängig. Witterung und Köderbeschaffenheit sind somit die wichtigsten variablen Faktoren, die sich auf die Fangzahlen auswirken und bei den ökologischen Untersuchungen als Fehlerquellen zu beachten sind.

1. Meteorologische Einflüsse.

Von den Witterungsfaktoren haben Temperatur und Licht, in geringerem Grade wohl auch die Luftfeuchtigkeit, einen großen Einfluß auf das Verhalten von *Drosophila*. Die Bedeutung speziell des Lichtes für den Tagesrhythmus der Fliegen wurde durch die Untersuchungen von MITCHELL und EPLING (1951) erwiesen.

Um den Einfluß des Wetters auf die Fangzahlen festzustellen, wurden am 31. 8. 53 in dem Waldstück Nr. 29 (Ostinghausen) Fallen mit dem normalen Köder ausgehängt und bis zum 6. 9. täglich etwa um 18.00 Uhr auf ihren Ertrag kontrolliert. Durch schattige geschützte

Anbringung wurde eine Störung durch direktes Tages- oder Sonnenlicht ausgeschlossen. Gleichzeitig (ab 1. 9.) waren im Arnsberger Wald eine größere Zahl Fallen in Aktion. Ihnen wurden zwei Fänge entnommen, der erste bei einer Zwischenleerung am 4. 9. und der zweite beim Einholen der Fallen am 8. 9.

Abb. 4 zeigt die täglichen Fangzahlen der beiden häufigsten Arten *D. silvestris* und *D. phalerata* am Platz Nr. 29, ferner die Kurven der

Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit in dem beobachteten Zeitraum. Der heißeste Tag (2. 9.), der bei SW-Strömung und Sonne Temperaturen bis $29,5^{\circ}$ brachte, hat nur einen sehr geringen Fang aufzuweisen. An den beiden folgenden Tagen, bei bedecktem Wetter und Mittagstemperaturen von $18-19^{\circ}$ war die Ausbeute um so größer. (Anzahl von *D. silvestris* am 3. 9. etwa 30mal so hoch wie am Vortage!) Die Kontrolle der Fallen im Arnsberger Wald am 4. 9. ergab ebenfalls einen reichlichen Fang (durchschnittlich 55 *Drosophila* je Falle). Am 5. 9. erfolgte Übergang zu heiterem Wetter mit Winddrehung über Nord auf Ost und Abkühlung auf $2,5^{\circ}$ in der folgenden Nacht. Dies brachte wieder ein starkes Absinken der

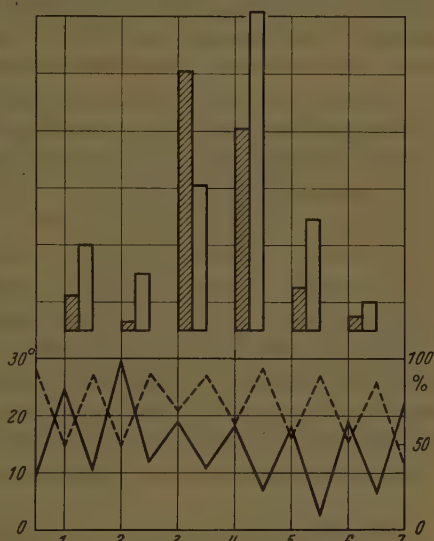


Abb. 4. Tägliche Fangzahlen von *D. silvestris* (schraffierte Säulen) und *D. phalerata* (weiße Säulen) in der Zeit vom 1.—6. 9. 53 am Platz Nr. 29. Darunter die Kurven der Temperatur (ausgezogen) und der relativen Luftfeuchtigkeit (gestrichelt).

Fangzahlen mit sich. Am 7. und 8. 9. herrschte klares Herbstwetter mit großen Temperaturschwankungen (mittags bis 25° , nachts $4-6^{\circ}$) und tagsüber nur geringer Luftfeuchtigkeit (im Freiland 38%). Leider konnte am Platz Nr. 29 an diesen Tagen nicht mehr gefangen werden. Im Arnsberger Wald war die Ausbeute am 8. 9. überraschend hoch (69 Tiere je Falle). Noch während des Einsammelns wurden Anflüge festgestellt, obgleich es Mittagszeit war. Nach der Depression am 5. und 6. brachten also der 7. und 8. wieder eine starke Aktivität der Fliegen, obwohl der Witterungscharakter sehr verschieden war von dem der ergebnisreichen Fangtage am 3. und 4.

Diese Beobachtungen lassen erkennen, daß die Reaktionsweise der Fliegen nicht starr, sondern plastisch ist. Die Aktivität beruht auf dem endogenen Trieb zur Nahrungssuche und Fortpflanzung und ist

lebensnotwendig. Sie kann daher in der wärmeren Jahreszeit nur kurzfristig, nicht aber für beliebige Zeit eingestellt werden. Dauert eine weniger günstige Wetterlage länger an, so müssen die Fliegen auch unter diesen Bedingungen wieder aktiv werden. In der Zeit vom 5.—8. 9. wurden günstige Temperaturen erst bei hohem Sonnenstand und damit bei zu großer Lichtintensität und zu geringer Luftfeuchtigkeit erreicht. Dennoch waren die Fliegen am 7. und 8. wieder tätig, und zwar auch in der Mittagszeit. Die Freiland-Art *D. subobscura* zog sich bei diesen Wetterverhältnissen anscheinend mehr in das Waldinnere zurück und wurde dort in ungewöhnlicher Anzahl gefangen (über 30mal soviel wie bei dem nachfolgenden Fang im Arnsberger Wald am 18. 9.).

Da die Fallen 6—7 Tage aushängen, wird ihre Ausbeute durch kurzfristige Aktivitätsschwankungen weniger beeinflusst. Die Faktoren Licht und Wärme können jedoch auf andere Weise die Fänge sehr beeinträchtigen. Die Wirkungsweise der Fallen beruht ja darauf, daß die Fliegen beim Verlassen des Köders zum Licht, d. h. gegen die Zelluloidhülle streben und den schwarzen Trichter mit der überdachten, dunklen Öffnung meiden. Ist die Falle jedoch bei warmem oder gar heißem Wetter dem Sonnenlicht ausgesetzt, so werden die Tiere negativ phototaktisch und finden über kurz oder lang den Ausweg. Zeitweilig besonnte Fangampeln brachten oft nur ein Zehntel der Ausbeute, verglichen mit benachbarten, gut beschatteten Fallen. Bei heiterem Sommerwetter ist also auf geschützte Anbringung der Trichterfallen sehr zu achten.

Den Einfluß eines weiteren Witterungsfaktors, nämlich des Windes, auf *Drosophila* zeigt ein interessantes Fangergebnis aus dem Arnsberger Wald (1.—8. 9. 53). Der Fangplatz, ein aus dem Möhnesee steil aufsteigender, eichenbewaldeter Hang (Nr. 30, Abb. 7) war in der Zeit vom 1.—4. 9. starken Südwestwinden ausgesetzt. Von den ausgehängten Fallen befanden sich vier im Bereich des Windes, die fünfte jedoch war oben am Hang, wo mehr Unterholz vorhanden ist, in einer Bodenrinne gut geschützt untergebracht. Am 4. 9. wurden die Fliegen entnommen, die Fallen jedoch am Ort belassen und am 8. 9. mit einem zweiten Fang eingeholt. Am 5. 9. schlug, wie oben erwähnt, das Wetter um, so daß die Flugaktivität der Tiere in der zweiten Fangperiode nicht mehr vom Winde beeinträchtigt wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Die Arten *D. silvestris*, *helvetica*, *deflexa* und *phalerata* wurden am 4. 9. ganz überwiegend an dem windgeschützten Standort gefangen, während am 8. 9. eine ziemlich gleichmäßige Verteilung oder — vor allem bei *D. helvetica* — eine Bevorzugung der etwa freieren Waldteile festzustellen war. Bemerkenswert ist, daß die Art *D. obscura* durch Luftbewegung anscheinend viel weniger behindert wird als die nahe verwandte *D. silvestris*, denn sie fand sich am 4. 9. auch im Windbereich

in erheblicher Anzahl. *D. subobscura* mied auch während der Windperiode den geschützten Standort.

2. Die Köderwirkung.

Die Lockwirkung des Köders ist abhängig einmal von der verwendeten Obstart und zum anderen von der anwesenden Mikroflora, die die Gärung durchführt. Sie erstreckt sich ferner nicht gleichmäßig und konstant auf alle *Drosophila*-Arten, vielmehr lassen diese in ihren Reaktionen artspezifische Unterschiede erkennen.

E. HADORN und Mit-

arbeiter (1952) verglichen die Fangzahlen, die sie zur gleichen Zeit und am gleichen Platz mit verschiedenartigen Köderfrüchten erzielten und stellten erhebliche Unterschiede fest. Äpfel lockten viele *D. subobscura*, aber nur wenige *D. tristis* und *helvetica* und gar keine *deflexa*. Bei Verwendung von Bananen wurden die letztgenannten Arten weit zahlreicher gefangen. Die besten Resultate hinsichtlich Individuen- und Artenzahl ergab ein aus verschiedenen Obstarten, darunter auch den im Fanggebiet vorkommenden Wildfrüchten zusammengestellter Mischköder.

Tabelle 3. *Einfluß des Windes auf Drosophila*. Fangzahlen vom 4. 9. (mit Wind) über, vom 8. 9. (ohne Wind) unter dem Strich. Ganz rechts der windgeschützte Standort.

	11	23	27	10	2
<i>subobscura</i> .	29	64	69	29	5
<i>silvestris</i> . .	2	2	15	12	90
	14	22	27	16	12
<i>obscura</i> . . .	4	13	19	7	19
	9	15	5	1	3
<i>helvetica</i> . .	—	—	—	—	2
	5	9	7	6	—
<i>deflexa</i> . . .	3	1	2	3	11
	6	3	17	6	8
<i>phalerata</i> . .	6	4	1	1	11
	22	16	34	35	62

Für die ökologische Arbeit verwendete ich gleichfalls einen Komplexköder und zwar, um vergleichbare Fänge zu erhalten, möglichst dieselbe Mischung aus einigen stets erhältlichen Fruchtarten. Allerdings mußte in der ersten Sommerhälfte ein anderer Köder gebraucht werden als in den Monaten August und September (Zusammensetzung s. S. 3). Beide Köderarten wurden auch nebeneinander auf ihre Wirksamkeit geprüft. Es wurden keine auffälligen Unterschiede festgestellt.

Daß verschiedene Hefearten ungleiche Lockwirkung haben, zeigen insbesondere die Untersuchungen von DA CUNHA und Mitarbeiter (1951). Bei dem zum Fang verwendeten Köder wird die Gärung in der Hauptsache durch die zugefügte Bäckerhefe bewirkt. Die Ausgangsmaterialien, vor allem Fallobst, sind jedoch schon mit wilden Hefen und anderen

Mikroorganismen infiziert, die sich im zubereiteten Köder weiter vermehren und seinen Gärungszustand beeinflussen können. Weitere Keime der verschiedensten Art werden durch die anfliegenden Tiere herangezogen. Mit der Alterung des Köders treten diese Nebenerscheinungen und Sekundärprozesse, wie z. B. die Essigbildung, immer mehr in den Vordergrund. Ich prüfte darum nach, ob frischer und alter Köder ungleiche Fangresultate liefern.

Tabelle 4. Lockwirkung frischen und alten Köders.

	frisch	alt
<i>subobscura</i> .	2	2
<i>silvestris</i> . .	96	101
<i>obscura</i> . .	—	1
<i>tristis</i> . . .	3	1
<i>helvetica</i> . .	28	11
<i>deflexa</i> . . .	28	4
<i>phalerata</i> . .	64	198
<i>kuntzei</i> . . .	16	42
<i>limbata</i> . . .	—	1
<i>testacea</i> . . .	—	1
<i>immigrans</i> . .	2	1
	239	363

gleichen Platz (Nr. 29) gleichzeitig (1.—6. 9. 53) zur Anwendung gebracht. Beide waren gleichartig aus Pflaumen, Birnen und wenig Äpfeln zusammengesetzt. Um den Standortunterschied als Fehlerquelle auszuschalten, wurden die beiden Fallen, deren Ausbeuten zu vergleichen waren, täglich nach Entnahme der Fliegen miteinander vertauscht. Das Ergebnis zeigt Tabelle 4. Die Arten der *quinaria*-Gruppe bevorzugten eindeutig den alten Köder, während *D. deflexa* und *D. helvetica*

an dem frischgärenden Obst stärker vertreten waren. *D. silvestris* wurde von beiden Ködern gleich stark angezogen.

Einige *Drosophila*-Arten reagieren auf das gärende Obst nur schwach oder gar nicht. Nach BASDEN (1952) wurde *D. cameraria* öfters in der Nähe von Pilzen gefunden, aber nur selten — und zwar ausschließlich im Winter — am Obstköder erbeutet. Die reichlichen Fänge dieser Art, die HADORN und Mitarbeiter (1952) in Südfrankreich erzielten, sind vielleicht auf Mangel an adäquater Nahrung infolge der sommerlichen Trockenheit zurückzuführen. Jedenfalls ist bei allen *Drosophila*-Arten, für die das gärende Obst nicht optimaler Geruchsreiz ist, mit der Konkurrenzwirkung der natürlichen Nahrungsquellen und folglich mit unregelmäßigen, nicht repräsentativen Fängen zu rechnen.

Bei den Arten der *fenestrarum*-Gruppe konnte ich überhaupt keine Lockwirkung des Obstköders feststellen. Ein halbstündiger Netzfang auf einer kleinen, mit *Urtica dioica* und *Rubus fruticosus* dicht bewachsenen Waldlichtung (Platz Nr. 29, am 23. 9. 53) ergab 20 *D. forcipata*, 14 *D. fenestrarum* und 6 *D. limbata*. Daraufhin legte ich in dem Gestrüpp, in dem die Tiere sich aufhielten, 1 kg Obstköder auf Cellophan aus und fing während zweier Tage sechsmal während der Aktivitätszeiten ab. Von den drei genannten Arten fand sich nur die zur *quinaria*-Gruppe gehörige *D. limbata* in 29 Individuen am Obst ein, die viel zahlreicher

vorhandene *fenestrarum*-Gruppe aber fehlte gänzlich. Bei sehr hohen Populationsdichten kann es jedoch vorkommen, daß ein oder wenige Exemplare durch Zufall an einem Köderhaufen mitgefangen werden. So wurden an einem Schilfgraben (S. 32 e), wo das Streifnetz rund 10 *fenestrarum*-Fliegen je Quadratmeter erbrachte, 4 Tiere auch an der ausgelegten Ködermasse erbeutet. In Trichterfallen wurden die Arten *D. fenestrarum* und *D. forcipata* niemals gefunden.

3. Vergleich der beiden Köderfangmethoden.

Da der Fang mit Trichterfallen methodisch von dem Sammeln an großen, offenen Ködermassen (BURLA 1951) recht verschieden ist, war es notwendig, beide Verfahren in ihrer Wirksamkeit zu vergleichen und insonderheit auch nachzuprüfen, ob sie ein übereinstimmendes Bild von der *Drosophila*-Fauna ergeben.

Tabelle 5. Vergleich der Fangmethoden (Platz Nr. 29).

	5 Köder- massen je 6 Fänge	5 Fallen 6 Tage
<i>subobscura</i> . . .	413	11
<i>silvestris</i> . . .	22	25
<i>obscura</i> . . .	5	2
<i>tristis</i> . . .	3	6
<i>helvetica</i> . . .	74	54
<i>deflexa</i> . . .	1	38
<i>phalerata</i> . . .	90	98
<i>kuntzei</i> . . .	53	72
<i>limbata</i> . . .	21	3
<i>testacea</i> . . .	3	—
<i>immigrans</i> . . .	116	39
<i>melanogaster</i> . . .	14	1
Summe . . .	815	349

D. limbata, *immigrans* und *melanogaster* sehr auffällige Zahlenunterschiede, die ohne Zweifel durch die Fangmethode bedingt sind.

Die Tatsache, daß *D. subobscura* in den Trichterfallen nur spärlich gefangen wird, ist aus der Ökologie dieser Spezies verständlich. Sie ist eine sehr bewegliche Art, die mehr auf das freie Gelände eingestellt ist und im Walde während des Sommers nur an offeneren Stellen fliegt. Nur der starke, weithin sich ausbreitende Geruch einer großen, freiliegenden Ködermasse ist offenbar imstande, die Aufenthaltsorte und Flugwege von *D. subobscura* zu erreichen und die Fliegen in größerer Zahl heranzuziehen. Wenn aber im Spätherbst die Art sich in die Unterholz- und Bodenregion des Waldes zurückzieht, dann liefern auch die Fallen sehr reichliche Ausbeuten (S. 18).

Für *D. melanogaster* gilt wohl das gleiche, denn diese Art wird gleichfalls mehr im Freiland gefunden (vgl. HADORN und Mitarbeiter 1952, Profilfang von Oloron). Die ökologisch ganz andersartige *D. limbata* lebt dagegen in bodennahen Kleinbiotopen (S. 34). Auch hier geben

die Fangampeln schlechte Resultate, weil sie normalerweise außerhalb des eigentlichen Habitats dieser Art aufgehängt werden.

Bei *D. deflexa* waren umgekehrt die Trichterfallen viel erfolgreicher als die andere Fangmethode. Es ist nicht anzunehmen, daß die Art den offen gebotenen Köder meidet. Sie läßt sich aber, wie ich an Saftflüssen und bei der Leerung der Fallen beobachten konnte, nur verhältnismäßig schwer aufscheuchen. Es ist möglich, daß das Zerren an der Unterlage des Köders bei meinen Fängen nicht ausreichte, um die Tiere ins Netz zu treiben. Wer die Kübelfangmethode anwendet, sollte jedenfalls darauf achten, daß nicht gerade diese Art beim Abfangen im Ködergefäß zurückbleibt.

Bei den meisten Waldarten, so bei *D. silvestris*, *D. helvetica*, *D. phalerata* und *D. kuntzei*, brachte eine Trichterfalle im Laufe eines Tages in der Größenordnung etwa den gleichen Ertrag wie ein Fang an einer Ködermasse von 1 kg während der Aktivitätszeit. Das überrascht ein wenig, wenn man bedenkt, daß die duftabgebende Oberfläche eines Köderhaufens etwa 50mal so groß ist wie die Trichteröffnung, die bei den Fallen den Geruchsaustritt gestattet. Zweifellos reicht die Lockwirkung einer großen Ködermasse ein Vielfaches weiter, aber in größerer Entfernung sind die Gradienten der Duftstoffkonzentration geringer. Man darf vielleicht annehmen, daß die geruchliche Orientierung in einem derart großen Raum nur sehr beweglichen und rasch fliegenden Arten wie *D. subobscura* möglich ist, und daß sich die große Ködermenge deshalb bei den übrigen Spezies nicht in dem zu erwartenden Maße auswirkt. Die ungerichteten Appetenzflüge, durch die die Tiere zufällig in den engeren Wirkbereich des Köders gelangen, sind ohne Zweifel für den *Drosophila*-Fang ebenso wesentlich und wichtig wie der direkte, duftgelenkte Anflug.

VI. Der Massenwechsel der *Drosophila*-Arten und angrenzende Probleme.

Die zeitlichen Änderungen der Populationsdichte sind bei den europäischen *Drosophila*-Arten bisher wenig untersucht worden. N. W. und E. A. TIMOFFEEF-RESSOVSKY (1940) veröffentlichten Kurven der jahreszeitlichen Häufigkeit von *D. melanogaster*, *D. funebris*, der *obscura*-Gruppe und „anderen Arten“. Ihre Angaben haben infolge mangelnder Unterscheidung der Wildarten nur einen beschränkten Wert. BASDEN (1952) teilt mit, in welchen Monaten des Jahres die einzelnen Arten anzutreffen sind, doch fehlen in diesem Kurzbericht nähere quantitative Angaben. Vergleiche zwischen aufeinanderfolgenden Jahren liegen nur für Nordamerika vor (PATTERSON 1943).

1. Die jahreszeitlichen Unterschiede.

Aus meinen *Drosophila*-Fängen lassen sich monatliche bzw. halbmonatliche Mittelwerte berechnen, die den Massenwechsel in den beiden

Jahren 1952 und 1953 näherungsweise wiedergeben. Sie sind in Abb. 5 graphisch dargestellt. Die Verschiedenheit der Fangplätze bringt natürlich Fehler mit sich, doch können diese im Durchschnitt mehrerer Fänge nicht übermäßig groß sein, da ich stets in kurzen Zeitabständen wieder zu ähnlichen oder den gleichen Wäldern zurückkehrte und in verschiedenartigen Biotopen möglichst gleichzeitig fing. Kiefernwaldfänge wurden bei der Berechnung ausgeschieden und Fänge im Arnsberger Wald nur in besonderen Fällen berücksichtigt. Die Diagramme stellen also in

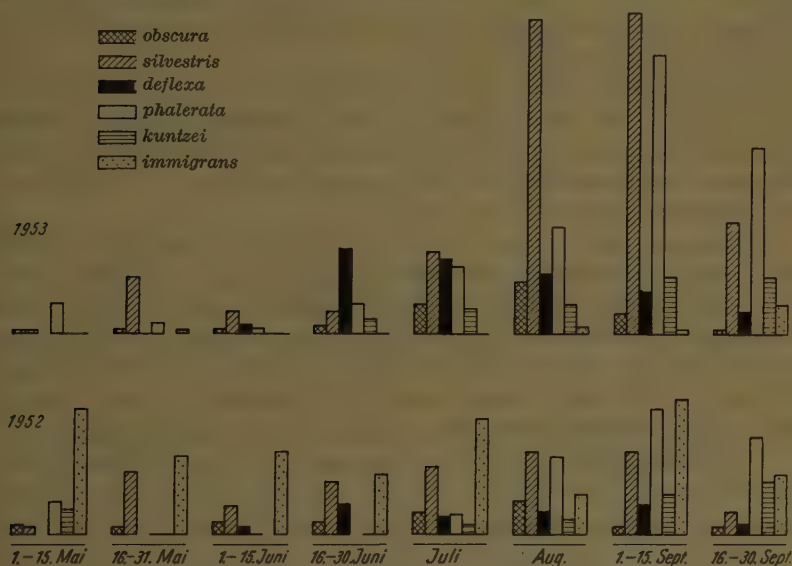


Abb. 5. Der Massenwechsel von *Drosophila* in den Jahren 1952 und 1953. (Laubwaldbiotope.)

erster Linie die Häufigkeit in Laubwäldern der Ebene dar. Die Monate Juli und August konnten nicht unterteilt werden, da einige Fänge in dieser Jahreszeit infolge großer Hitze oder Verstopfung durch *Phryne* ausfielen.

Das Diagramm berücksichtigt nur die Zeit von Ende April bis Ende September. Im Winter und Vorfrühling ist an wärmeren Tagen zwar eine geringe *Drosophila*-Aktivität festzustellen, doch sind die Fänge arm an Individuen und Arten. Neun Fänge vom 25. 2. bis 11. 4. 52 erbrachten insgesamt 21 *D. subobscura*, 3 *D. obscura* und 1 *D. funebris*. Im Oktober sind noch erhebliche Populationen vorhanden, die zurückgehenden Temperaturen verschlechtern jedoch den Fangertrag. Zur Zeit des Laubfalles sind noch einmal unerwartet hohe Fänge möglich, die anscheinend auf einer Art „Torschlußaktivität“ beruhen (S. 18).

Zum Jahreszyklus der einzelnen Arten ist folgendes festzustellen: Die eng verwandten Arten *D. obscura* und *D. silvestris* zeigen wichtige Unterschiede. *D. obscura* wird in wenigen Individuen schon im März gefangen, während *D. silvestris* erst mit höheren Temperaturen Ende April auftritt. Im Monat Mai wächst die Häufigkeit der letzteren Art rasch an, so daß *D. obscura* fortan nur als Minderheit neben ihr besteht. Das Dichtemaximum wird bei *D. obscura* wahrscheinlich Ende Juli bis Anfang August, bei *D. silvestris* Ende August bis Anfang September erreicht (vgl. hierzu auch Tabelle 6, S. 18). Der Abstieg geht bei *D. silvestris* sehr rasch vor sich. Zur Laubfallzeit ist die Art meist seltener als *D. obscura*.

Die ersten Individuen von *D. deflexa* zeigen sich erst Anfang Juni. 14 Tage später ist jedoch schon die volle Populationsdichte erreicht. Bis Anfang September bleiben die Zahlen, von einigen Schwankungen abgesehen, unvermindert, um dann rasch abzufallen. In den Fängen zur Laubfallzeit fehlte die Art völlig.

D. phalerata und *kuntzei* erscheinen Ende April in ziemlicher Anzahl, gehen aber anschließend stark zurück. Im Jahre 1952 fehlten beide Arten von Mitte Mai bis Anfang Juli fast gänzlich. Im Jahre 1953 war die Reduktion geringer und schon Mitte Juni setzte eine rasche Zunahme ein. Der Gipfel scheint bei *D. phalerata* Anfang September und bei *D. kuntzei* noch etwas später erreicht zu werden. In verminderter Anzahl werden beide Arten noch Anfang November gefangen.

Die eingebürgerte Art *D. immigrans* trat im Jahre 1952 schon Ende April in dichten Populationen auf. Sie blieb den ganzen Sommer über in der Mehrzahl der Fänge die häufigste *Drosophila*-Art. Im Jahre 1953 dagegen wurden bis August nur sehr wenige Individuen gefangen und erst im Herbst war die Art in größerer Zahl festzustellen.

Soweit die in Abb. 5 berücksichtigten Arten. Über die Populationsdichte von *D. subobscura* geben die Trichterfallen keinen brauchbaren Aufschluß. Die Art ist jedenfalls zu allen Jahreszeiten, auch an wärmeren Wintertagen, aktiv. *D. tristis* wurde von Mai bis Anfang November gefangen. *D. helvetica* bildet im Hellweggebiet vom August bis zum Laubfall ziemlich dichte Populationen. Die ersten wenigen Individuen zeigen sich im Juni. *D. limbata* und *transversa*, sowie auch *D. testacea*, verhalten sich, soweit die geringen Fangzahlen es erkennen lassen, ganz ähnlich wie die beiden Hauptarten der *quinaria*-Gruppe.

Das jahreszeitliche Vorkommen der *fenestrarum*-Gruppe wurde durch Netzfänge festgestellt. Vor dem Monat August wurde dieser Artenkomplex infolge geringer Populationsdichte und wohl unzureichender Fangtechnik nicht gefunden. Das prozentuale Verhältnis der beiden Spezies in vier Fängen, die ich zwischen dem 26. 8. und dem 28. 10. 53 auf der Waldlichtung am Platz Nr. 29 durchführte, ist in Abb. 6 dar-

gestellt. Im August überwog *D. fenestrarum* bei weitem; mit fortschreitender Jahreszeit aber nimmt der Anteil von *D. forcipata* stark zu, so daß bald ein umgekehrtes Mengenverhältnis erreicht wird. Andere Standorte ließen dieselbe zeitliche Änderung erkennen.

2. Vergleich der beiden Jahre.

Die Jahre 1952 und 1953 waren in ihrem Witterungscharakter recht verschieden, und es ist von großem Interesse, die Auswirkung auf die *Drosophila*-Arten zu prüfen.

Dem Sommer 1952 ging ein milder Winter mit nur 5 Eistagen (Maximum unter 0°) voraus. Der Winter 1952/53 brachte demgegenüber 16 Eistage, darunter 2 Tage mit Tiefsttemperaturen unter -10° . Die Zahl der Frosttage (Minimum unter 0°) betrug in den zwei Wintern 58 bzw. 89. Die Wirkung dieser verschiedenen Kältegrade zeigt sich sehr auffällig bei *D. immigrans*. Nach SPENCER (1940) kann die Art leichter Frost überstehen. Gelingt die Überwinterung im Freien, so vermehrt sie sich im Frühjahr rascher als die übrigen Wildarten. So wurde in Nordamerika nach den milden Wintern 1938/39 (SPENCER 1940)

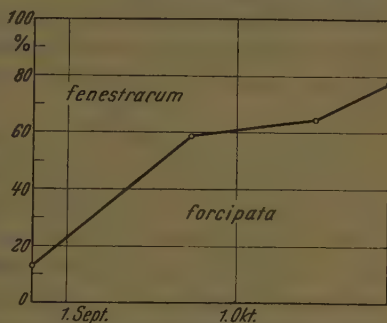


Abb. 6. Mengenverhältnis der beiden Arten der *fenestrarum*-Gruppe in der Zeit vom 26. 8. bis 28. 10. 53.

und 1940/41 (PATTERSON 1943) ein Massenaufreten von *D. immigrans* festgestellt. Meine Fänge vom Jahr 1952 zeigen, daß in Europa genau das gleiche eintreten kann. Der Winter 1952/53 war hingegen kalt genug, um die Populationen der Art fast restlos zu vernichten.

Ein weiterer Unterschied beider Jahre betrifft Menge und Verteilung der Niederschläge. Das Frühjahr 1952 war ungewöhnlich warm und trocken. Im April fielen nur 20—40 %, im Mai nur 40—80 % der normalen Regenmenge und das entstandene Defizit blieb bis zum Oktober und November bestehen. Frühjahr und Sommer 1953 hatten dagegen normalen Niederschlag (vgl. auch Tabelle 1, S. 6). Man wird nicht fehlgehen, wenn man die beinahe völlige Abwesenheit von *D. phalerata* und *kuntzei* im Mai und Juni 1953 auf die ungewöhnliche Trockenheit zurückführt. Diese Arten leben, soviel wir wissen, im Larvenstadium von saprophytischen Pilzen und verwesenden Stoffen und sind somit stark von der Bodenfeuchtigkeit abhängig. Es waren Ende April vermehrungsbereite Imagines in genügender Anzahl vorhanden, doch fehlte es nach dem sehr regenarmen Monat offenbar an Substraten. Die übrigen *Drosophila*-Arten litten vermutlich ebenfalls unter der Trockenheit, denn

in dem feuchteren Jahr 1953 bildeten alle Spezies (außer *D. immigrans*) nach anfänglicher Verzögerung durch Kälteperioden erheblich dichtere Populationen als im Vorjahr, wie man aus den Diagrammen für Juli-September (Abb. 5) ersehen kann.

3. Die Laubfallperiode.

In Tabelle 6 sind einige Fänge, die zu verschiedenen Jahreszeiten am Platz Nr. 29 durchgeführt wurden, zu einem Vergleich gegenübergestellt. Zur Zeit des Laubfalls (2. 11.) wurden, wie ersichtlich, in beiden Jahren ganz ungewöhnliche Ausbeuten erzielt. Die Art *D. subobscura*, die den Sommer über im Walde nur spärlich gefangen wird, tritt plötzlich in großen Massen auf. Auch *D. tristis* und *D. helvetica* zeigen in dieser Periode maximale Fangzahlen. *D. deflexa* ist dagegen verschwunden und auch von *D. silvestris* finden sich nur noch sehr wenige Individuen.

Um den Ursachen dieser abnormen Fänge nachzugehen, kontrollierte ich im Herbst 1953 die an Platz Nr. 29 aushängenden Fallen täglich auf ihren Ertrag. Zwei der Fallen befanden sich in einem fast unterholzfreien Teil des Waldes (A) und zwei in ziemlich dichten Haselbeständen, etwa 150 m von den erstgenannten entfernt (B). In Tabelle 7 sind die täglichen Fänge von *D. subobscura* im Gebiet A und die Tageshöchsttemperaturen angeführt. Bis zum 29. 10. wurden mäßige oder geringe Ausbeuten erzielt, die sehr klar von der Temperatur abhängig waren. Im Unterholzgebiet B waren die Fänge während dieser Tage nur sehr gering. Vom 30. 10. bis zum 1. 11. konnte leider nicht kontrolliert werden. Am 2. 11. lagen die Ausnahmefänge bereits vor und zwar auch im Gebiet B. Da Hunderte von Fliegen im Köder festklebten, mußten die Fallen zur vollständigen Leerung eingeholt werden. Der Laubfall war zu dem Zeitpunkt in vollem Gange; die Eichen trugen noch etwa

Tabelle 6. Fänge zu verschiedenen Jahreszeiten am Platz Nr. 29 (jeweils 5 Fallen).

	Jahr 1952			Jahr 1953		
	15. 9.	6. 10.	2. 11.	19. 7.	25. 8.	2. 11.
<i>subobscura</i>	5	1	1420	16	16	1816
<i>silvestris</i>	38	—	—	79	239	6
<i>obscura</i>	2	—	37	14	2	1
<i>tristis</i>	2	—	52	1	5	16
<i>helvetica</i>	7	—	252	2	85	166
<i>deflexa</i>	30	—	—	72	90	—
<i>phalerata</i>	43	14	32	96	193	39
<i>kuntzei</i>	63	3	5	13	42	41
<i>limbata</i>	—	2	—	—	—	1
<i>transversa</i>	3	—	—	—	—	—
<i>festacca</i>	3	2	—	1	4	—
<i>immigrans</i>	63	2	48	1	13	168

die Hälfte ihrer Belaubung, die Haselsträucher nur noch Reste derselben. Die Temperatur war vorübergehend stark abgesunken und hatte auch am Mittag des 1. 11. nicht die Höhe erreicht wie an den Vortagen. Sogar nach dem 2. 11., bei Tagestemperaturen unter 12° und starker nächtlicher Abkühlung (auf 2°), hielt die hohe Aktivität der Fliegen noch an. Eine Falle vom Fangplatz Nr. 25 (Schoneberg), die am 2. 11. ziemlich quantitativ geleert werden konnte, erbrachte bis zum Nachmittag des 3. 11. noch weitere 81 *subobscura*, 5 *helvetica* und Einzelindividuen von 6 anderen Arten.

In Tabelle 8 sind die Fänge vor und nach dem kritischen Zeitpunkt zusammen mit einem Septemberfang (21.—27. 9.) für die Gebiete A und B wiedergegeben. Von den 4 dort berücksichtigten Arten zeigen *D. phalerata* und *D. immigrans* die einfachsten Verhältnisse. Im Vergleich zum September sind die Fangzahlen dieser Arten zu Beginn des Laubfalls mehr oder weniger erniedrigt. Das ist erklärlich, da mit dem Temperaturrückgang im Herbst eine Abnahme zumindest der Aktivität zu erwarten ist. Bei *D. phalerata* dürfte überdies eine Verminderung der Populationsdichte erfolgt sein. Nach dem kritischen Zeitpunkt zeigen sich die Fangzahlen ungefähr auf das Zehnfache erhöht. Eine Vermehrung der Besiedlungsdichte dadurch, daß Fliegen aus dem freien Gelände oder den Baumkronen sich zum Waldboden hin zurückziehen, ist speziell bei *D. phalerata* unwahrscheinlich. Es muß hier eine trotz der geringen Temperatur stark gesteigerte Aktivität vorliegen, die man nicht unpassend eine „Torschlußaktivität“ nennen kann.

D. subobscura wurde im September nur in wenigen Individuen gefangen, da sie im Sommer offenere Biotope bevorzugt und das Innere des Waldes weitgehend meidet. Zu Beginn des Laubfalls zeigte sich im Unterholzgebiet B keine Änderung, im unterholzfreien Wald dagegen

Tabelle 7. Tägliche Fangzahlen von *D. subobscura* im Gebiet A während der Laubfallperiode 1953 (2 Fallen). Höchste Tagestemperaturen.

Tag	max. °C	Anzahl
25. 10.	19,5	44
26. 10.	14,5	6
27. 10.	17,7	13
28. 10.	19,0	33
29. 10.	12,0	0
30. 10.	9,5	
31. 10.	11,0	
1. 11.	15,3	↓
2. 11.	12,2	651

Tabelle 8. Fänge in den Waldteilen A und B (je 2 Fallen) Ende September und zur Laubfallzeit.

Datum	<i>phalerata</i>		<i>immigrans</i>		<i>subobscura</i>		<i>helvetica</i>	
	A	B	A	B	A	B	A	B
23.—27. 9.	16	76	18	17	7	6	28	36
24.—28. 10.	2	1	3	7	96	5	42	1
30. 10.—2. 11.	8	20	45	79	651	701	38	57

war die Fangzahl um mehr als das Zehnfache gestiegen. Die Populationen von *D. subobscura* sind also schon in den Bereich des Waldes eingerückt, doch wird das Gebüsch vorerst noch gemieden. Am 2. 11., als die Entlaubung des Unterholzes zum größten Teil vollzogen war, lieferten beide Gebiete sehr hohe, ungefähr gleiche Anzahlen der Art. Der Rückzug von *D. subobscura* in die Bodenregion des Waldes ist also eindeutig vom Blattfall und zwar speziell von dem des Unterholzes abhängig. Am 2. und 3. 11. konnte ich mit dem Streifnetz über der Laubschicht einige *subobscura* erbeuten, während die Art zu anderen Jahreszeiten dieser Fangmethode unzugänglich ist. Es ist bemerkenswert, daß die Individuen an sonnigen Waldstellen gefangen wurden, dort, wo auch größere Fliegen (Musciden, Calliphoriden) sich den Wärmestrahlen aussetzen. Der kritische Zeitpunkt bringt bei *D. subobscura* wohl die gleiche Aktivitätssteigerung wie bei den andern Arten. Da die Fänge vom 24.—29. 10. im unterholzfreen Wald hinsichtlich der Zusammensetzung (über 90 % *subobscura* und *helvetica*) schon den Ausnahmefängen gleichen, darf man annehmen, daß das Einrücken in den Wald hier schon beendet ist. Die weitere Fangzahlerhöhung im Gebiet A wäre demnach allein auf die „Torschlußaktivität“ zurückzuführen.

D. helvetica zeigt zu Beginn des Laubfalles ein ähnliches Verhalten wie *D. subobscura*, indem sie nämlich das Unterholzgebiet meidet. Sie ist jedoch keine ausgesprochene Freilandart und wurde Ende September (und auch vorher) in beiden Waldteilen in erheblicher Anzahl gefangen. Diese auffallende Tatsache hat vermutlich folgenden Grund: *D. helvetica* scheint wärmebedürftiger zu sein als die anderen Arten, da sie nur in der klimatisch begünstigten Hellwegebene größere Dichten erreicht. Im Spätherbst wird das Mikroklima des Unterholzgebietes infolge sinkender Luft- und Bodentemperaturen und Mangel an Wärmestrahlen wohl zu ungünstig für die Art, so daß sie lichtere Teile des Waldes als Habitat wählt. Als eine stark pigmentierte, fast tiefschwarze Art ist sie gut befähigt, die Strahlung auszunutzen. Daß zumindest die verwandte *D. subobscura* in der kälteren Jahreszeit von dieser Wärmequelle Gebrauch macht, zeigt der erwähnte Netzfang im direkten Sonnenschein am Waldboden. Mit der Entlaubung der Haselbüsche entfällt auch bei *D. helvetica* der Unterschied der beiden Waldteile. Die Fangzahl im Gebiet A ist nach dem kritischen Zeitpunkt ungefähr die gleiche wie vorher. Eine Aktivitätssteigerung liegt dennoch vor, da ja der günstigste Tag nach dem kritischen Punkt (der 1. 11.) kaum wärmer war als der 26. 10., an dem nur eine einzige *D. helvetica* gefangen wurde. Die Temperaturempfindlichkeit der Art ist vermutlich der Grund dafür, daß die Zahl nicht wie bei den anderen Spezies weit über die der Vorperiode erhöht ist.

Die interessante Erscheinung der „Torschlußaktivität“ ist also bei jeder der vier in Tabelle 8 berücksichtigten Arten festzustellen. Sie zeigt sich ferner in sehr auffälliger Weise bei *D. tristis*, weniger stark bei *D. kuntzei* und außerdem, soweit es die sehr geringen Fangzahlen erkennen lassen, bei *D. silvestris* und *D. busckii*. Sie fehlt jedoch bei *D. limbata*. Ich fing von dieser Art ein Exemplar in einer Falle (Gebiet B) am 27. 10. und 15 Stück bei Netzfängen am 28. 10. (Temperatur bis 19°). Am 2. 11. war sie schon inaktiv und auch mit dem Netz nicht mehr zu finden. Die *fenestrarum*-Gruppe verhielt sich ähnlich. Netzfänge am 2. und 3. 11. ergaben nur 4 Tiere gegenüber 245 am 28. 10.

Die „Torschlußaktivität“ besteht nicht in einer gesteigerten Beweglichkeit der Fliegen, denn diese verhalten sich in den Fallen der niedrigen Temperatur entsprechend träge und ungeschickt, so daß bei der Leerung viele im Köder ankleben. Vielmehr scheint es sich nur um ein stark erhöhtes Appetenzverhalten zu handeln. Dasselbe könnte dem Aufsuchen solcher Winterquartiere dienen, in denen den Fliegen außerhalb der Zeiten der Kältestarre eine Nahrungsaufnahme möglich ist. Welche Außenbedingungen die Verhaltensänderung hervorrufen, zeigen die Beobachtungen nicht klar genug. Der Zusammenhang mit dem Laubfall ist sicher, doch geht die Änderung nicht wie die Entlaubung allmählich, sondern sprunghaft vor sich. Vielleicht hatte der vorübergehende Temperatursturz um den 30. 10. eine auslösende Bedeutung. Möglicherweise sind aber auch endogene Ursachen von der Art, wie sie bei gewissen Spezies (s. unten) selbst unter konstanten Zuchtbedingungen im Herbst eine Diapause herbeiführen, für das Zustandekommen dieser Erscheinung wichtig.

4. Die Überwinterung.

Die einzelnen *Drosophila*-Arten stimmen in dem Modus der Überwinterung keineswegs überein. Wenn wir unsere bisherigen Kenntnisse darüber zusammenfassen, so ergibt sich eine Einteilung in die folgenden 4 Gruppen:

1. Eurytherme Arten, die an wärmeren Wintertagen zur Aktivität erwachen und am Köder gefangen werden können (*D. subobscura* und *obscura*). Da die Gonaden in funktionstüchtigem Zustand sind, sind Eiablagen während des Winters nicht ausgeschlossen. Es bleibt zu prüfen, ob hier alle Entwicklungsstadien mehr oder weniger befähigt sind, Kälteperioden zu überdauern.

2. Arten, die über Winter inaktiv sind, aber keine eigentliche Diapause erkennen lassen. Hierher gehören jene Arten, die bis zur Laubfallzeit gefangen werden und an den ersten wärmeren Tagen Mitte und Ende April wieder erscheinen (*D. phalerata*, *kuntzei*, *limbata*). Die

dunkle Färbung der Frühjahrstiere spricht wohl dafür, daß es überwinterte Individuen sind. Ob auch unentwickelte Stadien dieser Arten zu überwintern vermögen, ist nicht bekannt.

3. Arten, die im Herbst in eine reproduktive Diapause eintreten. Bei der mediterranen *D. rufifrons* (BUZZATI 1943) und der nearktischen *D. robusta* (CARSON und STALKER 1948) besitzen die Weibchen im Herbst nur kleine, unreife Ovarien und werden erst im nächsten Frühjahr fortpflanzungsfähig. Bei Sektion von einigen im September und Oktober gefangenen *D. fenestrarum* und *D. forcipata* stellte ich fest, daß auch hier die Eistränge klein, unentwickelt und anscheinend nicht funktionsfähig waren. Möglicherweise gehört also auch der *fenestrarum*-Komplex zu dieser Gruppe.

4. Arten, deren Larvenentwicklung im Herbst durch eine Diapause unterbrochen wird. Nach BASDEN (1952) zeigen die Larven von *D. deflexa* über Winter trotz normaler Zuchtbedingungen (18° Wärme) einen solchen Entwicklungsstillstand. Für eine Überwinterung im Larvenstadium spricht auch das jahreszeitliche Vorkommen der Imagines dieser Art, die nur von Anfang Juni bis Ende September gefunden werden.

VII. Die Biotopverteilung der *Drosophila*-Arten.

BURLA (1951) unterschied bei seinen Untersuchungen 5 Biotope: 1. Wald, 2. Waldrand, 3. freistehende Gehölze, d. h. Baumgruppen und Hecken, 4. Obstgärten, 5. Hausnähe. Er stellte fest, daß manche Arten (z. B. *melanogaster*, *junebris*) sich überwiegend an die beiden letztgenannten Biotope halten und somit Kulturfolger sind. Die übrigen Arten, also die wildlebenden *Drosophila*, erwiesen sich teils als Waldbewohner (*obscura*, *silvestris*, die *quinaria*-Gruppe, *testacea* und *histrio*) und teils als Besucher des offenen Geländes, welche außerhalb ihrer kurzen täglichen Aktivitätszeiten in den Schutz von Waldrändern und freistehenden Gehölzen zurückkehren und darum an diesen Standorten am häufigsten gefangen werden (*subobscura*, *littoralis*).

Bei meinen Untersuchungen beschränkte ich mich auf Fänge in Wäldern. Für Arbeiten im offenen Gelände sind die Trichterfallen wegen des Lichteinflusses (S. 10) ungeeignet und Fänge an freistehenden Gehölzen und Waldrändern sind quantitativ kaum auszuwerten, da es sich hier nicht um normal besiedelte Lebensräume, sondern um Refugien handelt. Ich unternahm es also, durch Vergleich der *Drosophila*-Fauna verschiedenartiger Waldtypen die ökologischen Ansprüche der einzelnen Arten genauer festzustellen. Die Fangzahl von 5 in dem betreffenden Biotop ausgehängten Fällen wurde hierbei als ungefähres Häufigkeitsmaß angenommen und als Vergleichsgrundlage verwendet.

1. Statistischer Vergleich verschiedener Biotope.

Unter den Faktoren, die die biologische Eigenart eines Waldes bestimmen, sind Baumart und Bodenazidität an erster Stelle zu nennen. Daß bei *Drosophila* eine Abhängigkeit von der Baumart bestehen kann, zeigt uns die nordamerikanische *D. robusta*, welche sich hauptsächlich in Schleimflüssen der amerikanischen Ulme entwickelt und in Häufigkeit und geographischer Verbreitung deutliche Beziehungen zu diesem Baum erkennen läßt (CARSON 1952). Eine Abhängigkeit vom Boden ist bei denjenigen Arten gegeben, die sich im Larvenstadium von saprophytischen Pilzen und verwesenden Stoffen nähren. Hier darf man einen maßgeblichen indirekten Einfluß der Bodenreaktion erwarten. Diesen Überlegungen folgend, nahm ich zwei Gegenüberstellungen vor. Ich verglich erstens Eichenwälder (Baumart *Quercus pedunculata*) mit Buchenwäldern (Baumart *Fagus sylvatica*) und zweitens innerhalb der Eichenwälder die Querceto-Carpineten (neutraler oder alkalischer Boden, rasche und vollständige Verwesung) mit den Querceto-Betuleten (saurer Boden, Rohhumusbildung).

Da die Fangergebnisse großen jahreszeitlichen und witterungsbedingten Schwankungen unterliegen, sind nur gleichzeitige oder zeitlich benachbarte Fänge vergleichbar. Ich berechnete daher zunächst bei jedem derartigen Fangpaar die prozentuale Biotopverteilung der einzelnen *Drosophila*-Arten nach der Formel

$$V_a = \frac{a \cdot 100}{a + b}$$

(V_a = Anteil des Biotops A, a = Fangzahl im Biotop A, b = Fangzahl im Biotop B). Fälle, in denen die Fangzahl in beiden Biotopen unter 5 lag, wurden ausgeschieden. Von diesen bei den einzelnen Fangpaaren gefundenen Prozentzahlen wurde dann der Mittelwert M und sein mittlerer Fehler errechnet. Für den anderen Biotop ergibt sich der Restwert $100 - M$ mit dem gleichen Fehler. Da die Prozentanteile der beiden Biotope reziproken Werten einer einzigen Verhältnisgröße entsprechen, ist der Unterschied statistisch gesichert, wenn die Zahl 50 außerhalb des dreifachen Fehlerbereiches liegt.

Für die Gegenüberstellung *Eiche/Buche* lagen 14 Fänge aus Buchenwäldern und eine über doppelt so große Zahl von Eichenwaldfängen vor. Jeder Buchenwaldfang wurde darum mit zwei ihm zeitlich am nächsten liegenden Eichenwaldfängen verglichen. Tabelle 9 zeigt das Ergebnis. Ein statistisch gesicherter Unterschied besteht vor allem bei *D. silvestris*. Sie bildet in Eichenwäldern weit dichtere Populationen als im Buchenwald und zwar ist dies recht konstant zu beobachten (der mittlere Fehler ist der kleinste innerhalb der Tabelle!). Die Schwesterart *D.*

Tabelle 9. Vergleich zwischen Eichen- und Buchenwald. Mittlere Fangzahlen (n) und Verteilungsprozente der wichtigsten *Drosophila*-Arten.

	Eichenwald		Buchenwald	
	n	%	n	%
<i>subobscura</i>	9	32 $\pm$ 5,3	27	68 $\pm$ 5,3
<i>silvestris</i>	113	72 $\pm$ 4,2	37	28 $\pm$ 4,2
<i>obscura</i>	15	37 $\pm$ 6,4	12	63 $\pm$ 6,4
<i>deflexa</i>	20	67 $\pm$ 7,3	23	33 $\pm$ 7,3
<i>phalerata</i>	56	52 $\pm$ 5,2	42	48 $\pm$ 5,2
<i>kuntzei</i>	17	58 $\pm$ 7,1	14	42 $\pm$ 7,1
<i>immigrans</i>	15	54 $\pm$ 7,9	16	46 $\pm$ 7,9

obscura läßt dagegen keine klare Bevorzugung eines der beiden Biotope erkennen. Ein gesicherter Unterschied ist bei *D. subobscura* vorhanden, welche vorzugsweise im Buchenwald angetroffen wurde. Sie fand sich im Eichenwald vermutlich deshalb in geringerer Zahl, weil sie das dort vorhandene Unterholz weitgehend meidet. Von den übrigen Arten zeigt *D. phalerata* ein ziemlich gleichmäßiges Vorkommen in beiden Biotopen (Prozentzahlen nahe 50, kleiner Fehler). *D. kuntzei* und vor allem *D. deflexa* lassen dagegen eine recht unregelmäßige Verteilung erkennen. Der Biotopvergleich ergibt hier deutliche numerische Unterschiede, die jedoch noch im Streubereich liegen. Bei *D. deflexa* zeigen die Prozentzahlen ein Verhältnis von 2:1 zugunsten der Eiche, das Verhältnis der absoluten Zahlen ist jedoch durch einen sehr hohen Buchenwaldfang (S. 26) zur Seite der Buche hin verschoben.

Für den Vergleich zwischen mesophilen und azidophilen Eichenbiotopen wurden nur typische Standorte ausgewählt, und zwar vier *Querceto-Carpineten* (Nr. 29, 22, 19, 5) und vier *Querceto-Betuleten* (Nr. 13, 16, 17, 30). Damit blieben allerdings von den vorliegenden 45 Eichenwaldfängen nur 14 zur Gegenüberstellung übrig. Tabelle 10 zeigt die Auswertung. *D. silvestris* ist sehr gleichmäßig auf beide Biotope verteilt (Prozentzahlen nahe 50, kleiner Fehler, absolute Werte wenig verschieden). Die eng verwandte *D. obscura* hingegen fand sich im azido-

Tabelle 10. Vergleich zwischen mesophilen und azidophilen Eichenbiotopen. (Erklärung s. Tabelle 9.)

	Querceto-Carpinetum		Querceto-Betuletum	
	n	%	n	%
<i>subobscura</i>	7	48 $\pm$ 15,2	35	52 $\pm$ 15,2
<i>silvestris</i>	103	48 $\pm$ 4,1	111	52 $\pm$ 4,1
<i>obscura</i>	2	23 $\pm$ 15,6	30	77 $\pm$ 15,6
<i>deflexa</i>	28	63 $\pm$ 6,3	16	37 $\pm$ 6,3
<i>phalerata</i>	99	69 $\pm$ 10,4	59	31 $\pm$ 10,4
<i>kuntzei</i>	30	87 $\pm$ 4,7	4	13 $\pm$ 4,7
<i>immigrans</i>	16	55 $\pm$ 15,9	5	45 $\pm$ 15,9

philen Eichenwald meist in erheblich größerer Anzahl, doch ist der Unterschied bei den weiten Fehlergrenzen ungesichert. Eine Bevorzugung des Querceto-Carpinetums lassen eindeutig *D. kuntzei* und weniger klar auch *D. deflexa* erkennen. Auch *D. phalerata* wurde überwiegend in diesem Biotop angetroffen, doch ist die Verteilung in den einzelnen Fällen recht inkonstant (großer Fehlerbereich).

2. Die Orte der größten Fangzahlen.

Zur Ergänzung des mit statistischer Methode durchgeführten Biotopvergleichs ist es zweckmäßig, bei jeder *Drosophila*-Art die Plätze der reichlichsten Fänge zu beachten. Orte, an denen größte Populationsdichten festgestellt wurden, bieten der betreffenden Art besonders günstige Lebensbedingungen. Die Abhängigkeit der Art von bestimmten ökologischen Faktoren müßte somit deutlich werden.

Im folgenden sind deshalb für die einzelnen Spezies die fünf größten Fänge (Fangzahlen *kursiv* gedruckt) mit Angabe von Fundort und Biotop zusammengestellt. Die Ausnahmefänge der Laubfallperiode sind nicht berücksichtigt und Fänge am gleichen Standort nur einmal (mit der höchsten Fangzahl) angeführt.

D. subobscura. 202: am 24. 8. 53 bei Breitenbruch (Nr. 37, alter Buchenwald, Hanglage). 196: am 8. 9. 53 am Möhnesee (Nr. 30, Eiche-Fichte, Hanglage). 90: am 30. 5. 52 in der Hohen Ward (Nr. 16, Eiche, azidophil, kein Unterholz). 45: am 25. 9. 53 am Möhnesee (Nr. 31, Waldrand am Wasser). 32: am 29. 7. 53 in den Baumbergen (Nr. 3, Buche).

Die Art wurde von BURLA (1951) und anderen Autoren mehr an Waldrändern und freistehenden Bäumen und Hecken gefangen. Diese Biotope sind Orte vorwiegend seitlichen Lichteinfalls, und es ist interessant, daß es sich bei den Waldplätzen Nr. 37 und 30, an denen ich maximale Fänge erzielte, um ziemlich steile Hänge mit ebenfalls einseitigen Lichtverhältnissen handelt. Am 24. 8. 53 wurde außer am Buchenhang Nr. 37 auch in dem Eichen-Auewald Nr. 34 gefangen. Hier, wo entlang des Bachbettes reichliches Licht von oben einfällt, waren die Zahlen von *D. subobscura* weitaus geringer (23 gegen 202).

D. silvestris. 756: am 4. 9. 53 an der Kl. Schmalenau (Nr. 32, Eichen-Auewald). 372: am 29. 8. 53 in der Davert (Nr. 13, Eiche, azidophil, feucht). 246: am 6. 9. 53 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil, feucht). 240: am 18. 9. 53 an der Wanne (Nr. 39, Eichen-Auewald). 205: am 18. 9. 53 im südlichen Arnsberger Wald (Nr. 40, Buche).

Die vier ergiebigsten Plätze sind sämtlich Eichenbestände und zwar solche von hoher Bodenfeuchtigkeit. An fünfter Stelle folgt allerdings ein Buchenwald, doch wird eine kritische Prüfung dieser Fänge aus dem Arnsberger Wald zeigen, daß hier kein Indizium gegen die Abhängigkeit der Art vom Eichenbiotop vorliegt (Abschn. 3).

D. obscura. 91: am 4. 9. 53 an der Kl. Schmalenau (Nr. 32, Eichen-Auewald). 62: am 4. 9. 53 am Möhnesee (Nr. 30, Eiche, azidophil, trocken, windexponiert). 59: am 29. 8. 53 in der Davert (Nr. 13, Eiche, feucht, azidophil). 48: am 30. 8. 52 an der Grünen Hoffnung (Nr. 33, Eichen-Auewald). 42: am 24. 8. 53 bei Breitenbruch (Nr. 37, alter Buchenwald).

Die Standorte sind zum Teil die gleichen wie bei *D. silvestris*, doch sind daneben wichtige Unterschiede festzustellen. Ein trockener, windexponierter Biotop der in den *silvestris*-Fängen an neunter Stelle steht, ist hier auf den zweiten Platz gerückt. Dafür sind typische Querceto-Carpineten in obiger Liste nicht enthalten. Die größte Fangzahl von *D. obscura* in diesem mesophilen Biotop beträgt nur 17 (am 28. 7. 53 im Hengen Sundern, Nr. 19).

D. tristis. 19: am 29. 8. 53 in der Davert (Nr. 13, Eiche, azidophil feucht). 17: am 4. 9. 53 an der Kl. Schmalenau (Nr. 32, Eichen-Auewald). 11: am 30. 8. 52 an der Grünen Hoffnung (Nr. 33, Eichen-Auewald). 10: am 22. 8. 52 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil). 5: am 28. 7. 53 im Hengen Sundern (Nr. 19, Eiche, mesophil).

Alle Plätze sind Eichenbiotope von gleicher oder ähnlicher Art wie die bei *D. silvestris* genannten.

D. helvetica. 98: am 19. 9. 51 in Schoneberg (Nr. 26, Birken, Eichen, Fichten, azidophil, feucht). 85: am 25. 8. 53 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil). 75: am 1. 9. 51 am Heiligen Meer bei Hopsten (Kiefern, Birken, Heide und Moor). 27: am 8. 9. 53 am Möhnesee (Nr. 30, Eiche, azidophil, trocken). 20: am 4. 9. 53 an der Kl. Schmalenau (Nr. 32, Eichen-Auewald).

Nach HADORN und Mitarbeiter (1952) ist *D. helvetica* eine der Arten, die auch im Freiland fliegen. Aus obiger Fangliste ist keinerlei Bindung an bestimmte Waldbiotope ersichtlich, doch scheint die Art in bestimmten geographischen Gebieten besonders häufig zu sein. Die beiden besten Fänge stammen von Orten der Hellwegebene, die als Leegebiet klimatisch begünstigt ist (S. 5). Am Fangplatz Heiliges Meer zeigt sich möglicherweise ein ähnlicher Klimaeinfluß, da dieser Standort im Regenschatten der nordwestlichen Ausläufer des Teutoburger Waldes liegt. Es folgen dann zwei Plätze aus der Gegend des Möhnesees mit schon viel geringeren Fangzahlen. Offenbar ist dieser Raum noch von den *helvetica*-Populationen des Hellwegegebietes beeinflußt, denn südlich des Platzes Nr. 34 (an dem ich ein einziges Individuum fing) wurde die Art im Arnsberger Wald nicht mehr festgestellt. Auch im gesamten Münsterland wurden Fangzahlen über 5 (am 18. 9. 52 in den Baumbergen, Nr. 2) nicht beobachtet. Die Fänge zur Laubfallzeit zeigen ebenfalls diesen geographischen Unterschied.

D. deflexa. 184: am 26. 6. 53 in Nienberge (Nr. 10, Kalk-Buchenwald). 90: am 25. 8. 53 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil). 80: am 23. 7. 53 im Hengen Sundern (Nr. 19, Eiche, mesophil). 75: am 27. 6. 53 bei Tilbeck (Nr. 6, Buchenwald mit Ilex). 52: am 29. 8. 53 in der Davert (Nr. 13, Eiche, azidophil).

Ein typischer Kalk-Buchenwald und zwei Querceto-Carpineten lieferten die maximalen Fänge. Die Art scheint demnach, wie schon der Vergleich der beiden Eichenwaldtypen zeigte, mesophile Waldbiotope zu bevorzugen.

D. phalerata. 405: am 25. 9. 53 im Arnsberger Wald (Nr. 41, reiner Fichtenwald). 327: am 6. 9. 53 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil). 169: am 8. 9. 53 am Möhnesee (Nr. 30, Eiche, azidophil, trocken). 136: am 18. 9. 53 nördlich Arnsberg (Nr. 40, Buche). 107: am 14. 9. 52 in Schoneberg (Nr. 25, Eiche, mesophil bis sauer).

Die Verschiedenheit der Standorte, unter denen ein Fichtenwald an erster Stelle steht, deutet auf eine große ökologische Valenz dieser Art hin.

D. kuntzei. 72: am 6. 9. 53 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil). 62: am 14. 9. 52 in Schoneberg (Nr. 25, Eiche, mesophil bis sauer). 56: am 11. 9. 52 in Nienberge (Nr. 10, Kalk-Buchenwald). 39: am 29. 7. 53 in den Baumbergen (Nr. 3, Buche). 27: am 25. 9. 53 im Hengen Sundern (Nr. 19, Eiche, mesophil).

Alle großen Ausbeuten dieser Art stammen aus mesophilen oder schwach sauren Laubwäldern.

D. immigrans. 205: am 14. 9. 52 in Schoneberg (Nr. 26, Birken, Eichen, Fichten, azidophil). 122: am 29. 7. 52 bei Tilbeck (Nr. 7, Buche). 102: am 8. 5. 52 im Ameshorst (Nr. 9, Eiche mit Rotbuche-Unterholz). 90: am 13. 6. 52 in Wolbeck (Nr. 18, Eiche, mesophil bis sauer). 63: am 15. 9. 52 in Ostinghausen (Nr. 29, Eiche, mesophil).

Diese eingebürgerte, euryöke Art wurde im Jahre 1952 in den verschiedensten Waldbiotopen zahlreich angetroffen.

D. unimaculata und *D. littoralis* kommen nach BURLA (1951), DUDA (1935) und anderen Autoren an den Ufern von Gewässern vor. Diese interessante ökologische Bindung bestätigte sich auch in meinen Fängen. An allen untersuchten Bachufern im Arnsberger Wald (vgl. Abb. 7) wurde in geringer Anzahl *D. unimaculata* festgestellt, und zwar an vier Plätzen entlang der Kleinen Schmalenau (Nr. 32, 33, III und 34) und einem fünften an der Wanne (Nr. 39). Nur unmittelbar am Bachbett schien die Art sich aufzuhalten, denn Fallen, die nur 10 m vom Ufer entfernt hingen, ergaben keine *D. unimaculata*. *D. littoralis* fand sich hauptsächlich am Ufer des Möhnesees (IX und 31). An Waldbächen wurden nur zwei Individuen dieser Art gefangen (bei Nr. 32 und 39).

3. Die Biotopverteilung von *D. silvestris* im Mittelgebirge.

Im Spätsommer 1953 führte ich in einem Teil des Arnsberger Waldes intensivere Fänge durch, die zur Ökologie unserer häufigsten Waldart *D. silvestris* wichtige Aufschlüsse brachten. Die Karte in Abb. 7 zeigt das untersuchte Gebiet mit den einzelnen Fangplätzen.

Bei den Plätzen Nr. 32, 33, 34 und 39 handelt es sich um Eichenbestände in Bachauen (sehr feuchter, nur schwach saurer Boden mit *Deschampsia caespitosa*, *Oxalis acetosella*, *Stellaria holostea*, *Lysimachia vulgaris*). Nr. 30 ist ein relativ trockener, mit Fichten untermischter Eichenwald in Hanglage, mit Rasen von *Poa nemoralis* und *Teucrium scorodonia* (montanes Querceto-Betuletum). Auch am Platz Nr. 35 finden sich längs der Straße einige Eichen, im übrigen ist er ein sehr lichter, trockener Buchenhang mit azidophiler Vegetation (*Calamagrostis*, *Deschampsia flexuosa*, *Vaccinium*, *Calluna*). Nr. 37, 38 und 40 sind hochstämmige, saure Buchenwälder, Nr. 36 ein jüngerer, sehr schattiger Bestand derselben Baumart.

Erstmals wurde in diesem Gebiet am 30. 8. 52 gefangen, und zwar an den Plätzen Nr. 33 (Eiche) und Nr. 37 (Buche). *D. silvestris* fand sich ganz überwiegend im Eichenbiotop (Fangzahlen: 137 gegen 8), während *D. obscura* nur einen geringen Unterschied (48:30) erkennen ließ. Ein Jahr später (am 24. 8. 53) wiederholte ich den Fang, wählte jedoch an Stelle von Nr. 33 den Eichenwald Nr. 34. Das Resultat war sehr ähnlich. Das Zahlenverhältnis betrug bei *D. silvestris* 126:23, bei *D. obscura* nur 46:42 zugunsten der Eiche. Ist nun die Häufigkeit von *D. silvestris* durch die Baumart bedingt oder sind andere Faktoren, z. B. die unterschiedliche Bodenfeuchtigkeit von Talsohle und Hang, hier ausschlaggebend? Durch eine gleichzeitige Fangaktion an den 5 Plätzen Nr. 30, 32, 35,

36 und 38 (Aushängen der Fallen am 1. 9., Zwischenleerung am 4. 9. und Einholen am 8. 9.) versuchte ich, diese Frage zu klären.

Die Fänge vom 4. 9. (Abb. 8) lassen erkennen, daß die Populationsdichte von *D. silvestris* in dem Eichen-Auewald (Nr. 32) weitaus höher ist als an den übrigen Plätzen. Der trockene Eichenhang (Nr. 30) lieferte viel geringere Fangzahlen, doch ist er den Buchenwäldern noch deutlich überlegen. Relativ *silvestris*-arm war der lichte Standort Nr. 35. Auch



Abb. 7. Karte des Arnsberger Waldes mit den Fangplätzen Nr. 30–41, sowie den Standorten von Ködermassen (schwarze Dreiecke I–X).

D. obscura zeigt in diesen Fängen große Häufigkeitsunterschiede, die denen von *D. silvestris* bis zu einem gewissen Grade parallel gehen. Es fällt jedoch auf, daß der trockene, windexponierte Eichenhang Nr. 30 unverhältnismäßig reich an *D. obscura* ist.

In Abb. 9 sind die *silvestris*-Fänge vom 4. und 8. 9. einander gegenübergestellt. Die Zahlenwerte sind in dem kurzen Zeitraum von 4 Tagen auffällig geändert und zwar im Sinne eines Ausgleichs der Biotopunterschiede. Im Eichen-Auewald ist die Fangzahl stark, am Eichenhang merklich zurückgegangen, an den übrigen drei Standorten jedoch

um etwa 50% erhöht. Zehn Tage später, am 18. 9., wurde je ein Fang von den Plätzen Nr. 39 (Eiche) und Nr. 40 (Buche) eingebracht. Obwohl die Biotopart den Plätzen Nr. 32 bzw. 38 recht ähnlich ist, zeigte die Fangzahl von *D. silvestris* nur einen geringen Unterschied zwischen Eiche und Buche (240:205). Nehmen wir an Hand der 4 Fänge vom 24. 8., 4. 9., 8. 9., und 18. 9. einen Vergleich zwischen Eichen-Auewald und altem Buchenwald vor, so ergibt sich das in Abb. 10 dargestellte Bild einer zeitlichen Entwicklung. Der Biotopunterschied ist maximal ausgeprägt am 4. 9., 14 Tage später jedoch nahezu ausgeglichen.

Es liegt die Vermutung nahe, daß die Fliegen sich von ihrer eigentlichen Brutstätte aus in den Wäldern zerstreuten, so daß durch Migration

eine gleichmäßige Verteilung zustande kam. Unsere bisherigen Kenntnisse vom Wanderungsvermögen der *Drosophila*-Arten sprechen nicht gegen diese Deutung. DOBZHANSKY und EPLING (1944) fanden bei *D. pseudoobscura*, welche zur gleichen Artengruppe gehört wie *D. sil-*

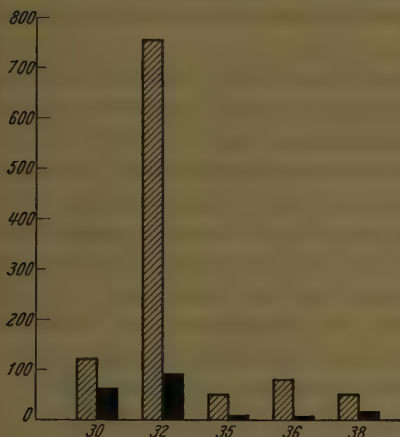


Abb. 8.

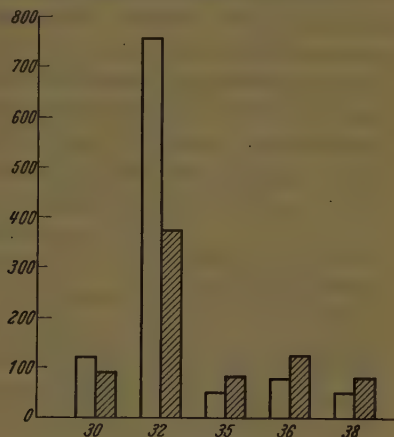


Abb. 9.

Abb. 8. Fangzahlen von *D. silvestris* (schraffiert) und *D. obscura* (schwarz) an den Plätzen Nr. 30—38 am 4. 9. 53.

Abb. 9. Fangzahlen von *D. silvestris* am 4. 9. (weiß) und am 8. 9. (schraffiert) an den Plätzen Nr. 30—38.

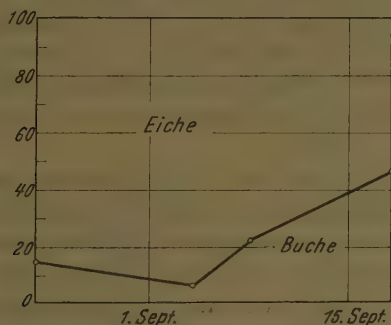


Abb. 10. Verteilung von *D. silvestris* auf die Biotope Eichen-Auwald und alter Buchenwald in dem Zeitraum vom 24. 8. bis 18. 9. 53.

vestris, bei Temperaturen von 20° C eine mittlere tägliche Ortsveränderung von 80 m. Diese Zahl ist der Durchschnitt von stark variierenden Einzelwerten, und manche Fliegen legen erheblich größere Strecken zurück als der Mittelwert angibt. Die Plätze Nr. 35 und 36 sind etwa 400 m von den nächsten Eichen-Auwäldern entfernt. Bei einer durchschnittlichen Migrationsrate von 50—100 m pro Tag ist es durchaus möglich, daß ein kleiner, aber zu der beobachteten Fangzahlerhöhung ausreichender Bruchteil der im Talgrund vorhandenen Fliegen in 4 Tagen die erforderliche Strecke zurücklegen konnte. Hinzu kommt der Einfluß

des Windes. In der Zeit vom 1.—4. 9. wurde die Ausbreitung der Fliegen zu den Plätzen Nr. 35, 36 und 38 durch lebhafte SW- und Westwinde behindert, am 5. aber erfolgte Winddrehung auf Ost. Die bis zum 9. 9. anhaltende, leichte bis mäßige östliche Luftströmung war ohne Zweifel geeignet, durch passiven Transport die Wanderung zu den westwärts gelegenen Standorten zu unterstützen.

Ein eindeutiger Beweis für das Vorliegen einer Migration konnte durch die Zählung der Jungfliegen erbracht werden. Man findet in den Köderfängen neben den voll entwickelten, dunkel pigmentierten Tieren von *D. silvestris* ab und zu auch minder ausgefärbte Stadien, darunter solche von blaß graugelber Farbe, bei denen die Abdominaltergite nur

Tabelle 11. Anzahl der unausgefärbten Jungtiere von *D. silvestris*.

Fangplatz	Datum	Anzahl
Nr. 32	4. 9.	35
	8. 9.	32
Nr. 30	4. 9.	5
	8. 9.	4
Nr. 35	4. 9.	—
	8. 9.	3
Nr. 36	4. 9.	1
	8. 9.	2
Nr. 38	4. 9.	—
	8. 9.	1

wenig dunkler sind als die Intersegmentalhäute und die Bauchmembran. Nur diese wurden gezählt. Von ihnen darf man annehmen, daß sie erst seit kurzer Zeit flugfähig waren und sich noch nicht weit von der Stätte ihrer Larvenentwicklung entfernen konnten. Wie aus Tabelle 11 ersichtlich, zeigt die Anzahl der Jungfliegen besonders deutliche Biotopunterschiede. Der Anteil der unausgefärbten Individuen betrug am 8. 9. im Auewald (Nr. 32) über 8%, am Eichenhang (Nr. 30) über 4%, in den Buchenwäldern jedoch nur 1—2%. Folglich kann die Erhöhung der Populationsdichte, die in der Zeit vom 4. zum 8. 9. in den Buchenbiotopen festzustellen

ist, nicht durch ortseigenen Zuwachs, sondern nur durch Migration bedingt sein.

Es steht somit fest, daß der Eichen-Auewald der Art *D. silvestris* optimale Entwicklungsbedingungen bietet und zwar, wie es scheint, durch seine hohe Bodenfeuchtigkeit. Beerensträucher gab es am Platz Nr. 32 nicht, abgesehen vom Weißdorn (*Crataegus*), dessen Früchte wegen ihrer späten Reife nicht als Larvennahrung der vorhandenen Fliegenpopulationen in Betracht zu ziehen sind. Der trockene Eichenhang erwies sich als viel weniger günstig, obgleich dort Bestände von Himbeeren (*Rubus idaeus*) vorhanden sind. Buchenwälder sind, wie am deutlichsten aus der Anzahl der Jungfliegen zu ersehen ist, hinsichtlich *D. silvestris* weitgehend, doch nicht ganz steril. Hier zeigt sich klar der Einfluß der Baumart, denn an den Plätzen Nr. 36, 38 und 40 war infolge des geringen Hanggefälles und der Schattenwirkung der Buche sicher mehr Feuchtigkeit vorhanden als an dem steilen, der Wirkung des Windes und der Sonne ausgesetzten Eichenhang Nr. 30.

Die verwandte *D. obscura* läßt in dem untersuchten Zeitraum im allgemeinen eine Verminderung der Populationsdichte erkennen. Die

Änderung der Biotopverteilung bei dieser Art ist in Abb. 11 dargestellt. Bei einem Vergleich mit dem entsprechenden Diagramm von *D. silvestris* fällt auf, daß eine gleichmäßige Verteilung nicht gegen Ende, sondern zu Beginn der untersuchten Periode beobachtet wurde. Dies ist vielleicht aus der Tatsache verständlich, daß *D. obscura* ihr Häufigkeitsmaximum etwa einen Monat früher erreicht als *D. silvestris*, so daß schon Ende August eine Zerstreuung durch Migration vorliegen kann. Sicheres läßt sich darüber nicht sagen, weil vor dem 24. 8. in dem Gebiet nicht gefangen wurde.

4. Eine Biotopuntersuchung mit der Kübelfangmethode.

Bei der geschilderten Fangaktion im Arnsberger Wald verwendete ich neben den Trichterfallen versuchsweise auch die Kübelfangmethode in der auf S. 4 beschriebenen Form. Am 7. 9. 53 wurde an 10 Plätzen in Eichen-, Fichten- und Buchenwald jeweils 1 kg Köder ausgelegt. Die Standorte sind in der Karte in Abb. 7 eingetragen; sie befanden sich entlang der Straße Soest-Arnsberg, doch stets 20—30 m waldeinwärts. Abgefangen wurde am 8. 9. nachmittags und am 9. 9. morgens je zweimal. Die Ergebnisse sind insofern von Interesse, als sie den mit gleicher Methode durchgeführten Fängen von BURLA (1951) und anderen Autoren direkt vergleichbar sind.

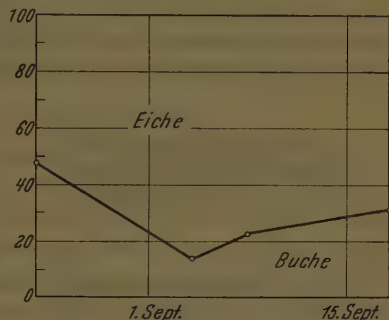


Abb. 11. Verteilung von *D. obscura* auf die Biotope Eichen-Auenwald und alter Buchenwald in dem Zeitraum vom 24. 8. bis 18. 9. 53.

Tabelle 12. Fangzahlen an Ködermassen im Arnsberger Wald. Durchschnittswerte für 4 Fänge an einer Masse von 1 kg.

	Eiche III, IV, VI	Buche I	Fichte V, VII, X
<i>subobscura</i> . . .	129	104	29
<i>silvestris</i> . . .	37	6	22
<i>obscura</i> . . .	19	7	6
<i>tristis</i> . . .	1	—	1
<i>helvetica</i> . . .	3	—	1
<i>phalerata</i> . . .	53	20	75
<i>kuntzei</i> . . .	—	—	3
<i>transversa</i> . . .	5	—	—
<i>testacea</i> . . .	—	3	1
<i>immigrans</i> . . .	4	3	3

Diejenigen Köderhaufen, die von hohem Gras oder Gestrüpp umgeben waren, lieferten nur dürftige, nicht repräsentative Fänge. Die durchschnittlichen Fangzahlen der übrigen sind für die drei Biotope Eichen-, Buchen- und Fichtenwald in Tabelle 12 wiedergegeben. Die hohen Anteile von *D. subobscura* sind typisch für die Methode (vgl. S. 13). Im Fichtenwald wurde die Art jedoch sehr viel weniger gefangen, was vermutlich auf der Lichtarmut dieses Biotops beruht. *D. phalerata*

bildet in Fichtenbeständen auffallend dichte Populationen und auch die im Arnsberger Wald seltene *D. kuntzei* wurde vorzugsweise hier angetroffen. Die Häufigkeiten von *D. silvestris* an den Nadelwaldplätzen sind sicher nicht biotopspezifisch, da stets Eichenwälder unmittelbar benachbart sind. Unterhalb des Buchenhanges, auf dem sich der Köderhaufen Nr. I befand, ist die Talsohle jedoch von Wiesen eingenommen und die Fangzahlen von *D. silvestris* sind hier dementsprechend gering.

5. Das Habitat der *fenestrarum*-Gruppe.

Das Vorkommen von *D. fenestrarum* und *D. forcipata*, die beide nicht auf den Obstköder ansprechen, wurde durch Netzfänge untersucht. Nach DUDA (1935) finden sich diese (von ihm nicht unterschiedenen) Arten auf feuchten Waldwiesen. Einige Individuen, die Herr Dr. BONESS, Kiel, mir zur Bestimmung übersandte, waren in Formolfallen auf Wiesen und Luzernefeldern erbeutet worden. Nach meinen Beobachtungen kommen die Arten der *fenestrarum*-Gruppe zwar auf Wiesen vor, sind aber in anderen Pflanzenbeständen viel häufiger. Die Fundstellen, welche größere Fänge ergaben, seien im folgenden kurz beschrieben. Abb. 12 zeigt die Fangzahlen und das prozentuale Verhältnis der beiden Arten (Sammelzeit jeweils $\frac{1}{2}$ —1 Std).

a) Dickicht von *Urtica dioica* und *Rubus fruticosus* auf einer kleinen Waldlichtung (Ostinghausen, Nr. 29).

b) Gestrüpp von *Cirsium oleraceum*, *Rubus fruticosus*, *Circaea* und *Eupatorium* in lichtem Eichenwald (Mackenbg. Nr. 21).

c) Schilf (*Carex*, *Sparganium*, *Iris*, *Phalaris* usw.) am Aasee bei Münster.

d) *Urtica dioica* und *Deschampsia caespitosa* im Eichenwald (Ostinghausen, Nr. 29).

e) Schilf (*Sparganium*, *Carex*, *Iris*) an einem flachen Graben unter Kopfweiden (Schoneberg, bei Nr. 27).

f) Ein von *Rubus fruticosus* und *Athyrium filix femina* überwuchelter Graben im Eichenwald (Nr. 27).

g) *Carex*-Bestand in einem feuchten Birkenwald (Schoneberg, Nr. 26).

h) *Rubus idaeus*, *Teucrium scorodonia*, *Athyrium* usw. im Kiefernwald (Schoneberg, Nr. 26).

i) *Phragmites*- und *Urtica*-Bestand an einem Abwassergraben in den Lippewiesen (Herzfeld, nordwestlich Nr. 25).

k) Tümpel mit *Iris*, *Carex* und *Phragmites* auf einer Waldwiese (Schoneberg, Nr. 25).

l) *Urtica dioica*, vermischt mit *Brachypodium silvaticum* am Waldrand derselben Wiese (NW-exponiert).

m) Bestand von *Deschampsia caespitosa*, *Lycopus* und *Bidens* an einem Waldweg (Bröggel, Nr. 23).

Die Standorte sind also hinsichtlich der Pflanzenarten sehr verschieden. Gemeinsam ist ihnen jedoch eine hohe Bodenfeuchtigkeit und die räumliche Struktur eines „Gestrüpps“, die einem fliegenden Tier etwas größere freie Zwischenräume bietet als die dichte Grasnarbe einer Wiese. Die Populationsdichte der *fenestrarum*-Gruppe kann an solchen

Stellen sehr hohe Werte erreichen. Am Platz e beispielsweise wurde ein Schilfsaum von 1 m Breite und 20 m Länge abgefangen. Die Fangzahl betrug auf den Quadratmeter rund 8 *D. forcipata* und 1 *D. fenestrarum* und die Anzahl der vorhandenen Fliegen dürfte 2—3mal so groß, vielleicht noch höher, gewesen sein.

An den meisten Plätzen wurden zwar beide Arten festgestellt, doch läßt ihr Mengenverhältnis deutliche biotopbedingte Unterschiede erkennen. Da sich das Verhältnis mit der Jahreszeit ändert, können nur gleichzeitige oder zeitlich benachbarte Fänge verglichen werden. Solche Fänge sind daher in Abbildung 12 zusammengefaßt. Man sieht, daß die Art *D. forcipata* jeweils an den Freilandplätzen einen höheren Anteil ausmacht als an den Waldstandorten. Auch bei enger räumlicher Nähe zeigt sich noch ein merklicher Unterschied, so an den Plätzen k und l, die nur 20—30 m voneinander entfernt sind. Von der Pflanzenart scheint das Mengenverhältnis der beiden Spezies in keiner Weise abhängig zu sein, denn manche Orte, die Fänge von sehr ähnlicher Zusammensetzung ergaben — wie z. B. g und h — sind hinsichtlich Vegetation sehr verschieden.

Die Tatsache, daß *D. forcipata* mehr im Freiland vorkommt, ist vielleicht durch größeren Wärmebedarf dieser Spezies bedingt (im offenen Gelände tagsüber höhere Temperaturen). Diese Deutung wurde bestätigt durch die Fangergebnisse aus dem Arnsberger Wald, der ein relativ strahlungsarmes Klima besitzt. Von vier dort durchgeführten Netzfängen ergaben drei (an den Plätzen II, IV und 31) nur die Art *D. fenestrarum* (2—7 Individuen). Lediglich an dem südexponierten, lichten Eichenhang Nr. 30 wurden am 26. 10. neben 5 *D. fenestrarum* auch 3 *D. forcipata* gefangen.

6. Das Vorkommen der *quinaria*-Gruppe in Gestrüpp-Biotopen.

Die Netzfänge in der Bodenvegetation ergaben neben dem *fenestrarum*-Komplex in geringerer Anzahl auch Arten der *quinaria*-Gruppe. So wurden am 26. 8. 53 auf der unter a genannten Waldlichtung auch 4 *D. phalerata* und 3 *D. limbata* erbeutet. Das Vorkommen von *D.*

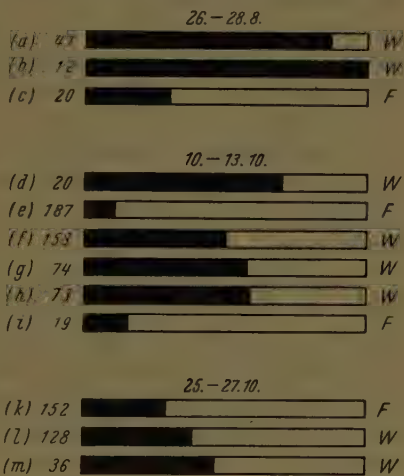


Abb. 12. Mengenverhältnis von *D. fenestrarum* (schwarz) und *D. forcipata* (weiß) an den Plätzen a—m. W Wald, F Freiland. Links die absolute Fangzahl (Summe beider Arten).

limbata überraschte ein wenig, denn bei einem am Tage zuvor eingeholten Fang mit Trichterfallen (von denen zwei nur 10 m von der Lichtung entfernt hingen) war die Art nicht festgestellt worden, obwohl *D. phalerata* und *D. kuntzei* in Fangzahlen von 193 bzw. 42 vertreten waren. Zwei weitere Fallen, die ich im Randgebüsch an der Lichtung anbrachte, fingen vom 1.—6. 9. nur ein einziges Exemplar. Die Vermutung, daß *D. limbata* nur sehr schlecht auf den Obstköder anspricht, bestätigte sich jedoch nicht, denn ein Köderhaufen, der am 24. 9. in dem *Urtica*- und *Rubus*-Gestrüpp der Lichtung ausgelegt und 6mal abgefangen wurde, ergab insgesamt 29 Individuen der Art. Auch eine am 26. 9. zwischen die Brombeerranken eingehängte Trichterfalle zog im Laufe von 24 Std 9 *D. limbata* an. Nach Verlagerung ins Unterholz, nur 3 m abseits der Lichtung, erbrachte dagegen selbst die große Ködermasse (bei einmaligem Fang) keine *D. limbata* mehr. Die Art hielt sich also streng an den Kleinbiotop des Gestrüpps und war außerhalb desselben kaum anzutreffen.

Das gleiche zeigte sich bei einem Fangexperiment, das ich in der Zeit vom 11.—13. 10. 53 am Platz Nr. 27 in Schoneberg durchführte. Es wurden drei Kleinbiotope miteinander verglichen, und zwar A ein Schilfbestand an einem flachen, derzeit ausgetrockneten Graben, 50 m außerhalb des Waldes unter einer Reihe Kopfweiden gelegen, B ein im Eichenwald nahe der Randhecke verlaufender Graben mit Brombeersträuchern und Farn, und C ein gelichteter Bestand von etwa 8 m hohen Jungfichten ohne Bodenvegetation, etwa 20 m von B entfernt. Bei den Gräben handelt es sich um die im vorigen Abschnitt unter e und f genannten. An allen drei Stellen wurde zunächst intensiv mit dem Netz gesammelt und anschließend legte ich jeweils zwei Ködermassen aus. Diese wurden im Laufe zweier Tage achtmal abgefangen. Das Ergebnis der Köder- und Netzfänge ist in Tabelle 13 für die vier Arten der *quinaria*-Gruppe zusammengestellt. *D. limbata* wurde an den Plätzen A und B, also im Schilf und Gestrüpp, in einiger Anzahl gefunden. Dagegen konnte die Art am Platz C, wo keine Bodenvegetation vorhanden ist, auch durch Ködermassen von weitreichender Wirkung nicht angelockt werden. Die übrigen drei Spezies verhalten sich ganz

Tabelle 13. Fangzahlen der *quinaria*-Gruppe in drei Kleinbiotopen am Platz Nr. 27.
K = am Köder, N = mit Netz.

	A Schilf, Freiland		B Waldgraben, Gestrüpp		C Wald ohne Bodenflora	
	K	N	K	N	K	N
<i>limbata</i>	6	13	10	10	—	—
<i>phalerata</i> . . .	1	1	25	17	24	—
<i>transversa</i> . . .	—	—	4	2	3	—
<i>kuntzei</i>	4	—	11	1	20	—

anders. In ihrem Fall ergaben die Waldplätze B und C ziemlich übereinstimmende Fangzahlen (am Köder), während an dem Freilandgraben A nur wenige oder gar keine Exemplare gefunden wurden. Ein Vergleich der beiden Fangmethoden zeigt, daß im Gestrüpp vor allem *D. limbata*, aber auch *D. phalerata* und *D. transversa* erfolgreich mit dem Netz gesammelt werden konnten. *D. kuntzei* macht eine Ausnahme; diese Art hält sich demnach kaum in der Bodenvegetation auf und kann ähnlich wie die *obscura*-Gruppe nur durch Köder in größerer Zahl dorthin gelockt werden. Netzfänge am Platz C, über dem nackten Boden und im unteren Gezweige der Fichten, ergaben keine *Drosophila*, obwohl der Köder hier gute Ausbeuten (besonders *D. subobscura* und *D. helvetica*) lieferte.

D. limbata wurde ferner an den Stellen d, g, h und k mit dem Netz erbeutet (2—8 Stück jeweils). Das Gesamtergebnis der Netzfänge in Gestrüppbiotopen in der Zeit vom 24. 8. bis 28. 10. 53 ist in Tabelle 2 (S. 7) angeführt. Die Zahlen gelten in erster Linie für die Hellwegebene, da in anderen Gebieten nur wenig und mit geringem Erfolg gefangen wurde. Viele am Köder häufige *Drosophila*-Arten, insbesondere die der *obscura*-Gruppe, fehlen in dieser Liste oder sind nur durch Einzelindividuen vertreten. Bodennahe Pflanzenbestände sind demnach nicht das natürliche Habitat dieser Arten, während umgekehrt *D. limbata* fast nur hier vorkommt.

VIII. Substrate der Larvenentwicklung.

Über Nahrung und Habitat der Larvenstadien von Wild-*Drosophila*-Arten liegen nur vereinzelte Beobachtungen vor. Speziell von der *obscura*-Gruppe ist folgendes bekannt: Larven von *D. subobscura* wurden in abgefallenen *Cornus*-Beeren (BUZZATI, nach BURLA 1951), in verrotteten Birnen (MAINX und Mitarbeiter 1953), in verwesenden *Iris*-Wurzeln (SMART, nach BASDEN 1952) und in beschädigten Gallen von *Biorrhiza pallida* (BASDEN 1952) gefunden. *D. helvetica* wurde aus Schleimfluß und Bohrmehl einer von *Cossus* befallenen Eiche gezüchtet (COLLIN 1952). Pilzflüsse kranker Ulmen enthielten zahlreiche Larven vom Artkomplex *D. obscura-silvestris* (GORDON 1942).

Ich untersuchte eine Anzahl von Saftflüssen und Wunden an Laubbäumen. Eventuell vorhandene Larven wurden weitergezüchtet, indem ich zu der entnommenen Probe (Saft mit Rindenstücken) Bäckerhefe, mit etwas Fruchtsaft verrührt, als Nährstoff hinzusetzte. Die Mortalität war bei diesem Verfahren viel geringer als bei Überführung der Larven auf einen künstlichen Nährboden.

Drosophila-Larven wurden in der Regel in gärenden weißlichen Schleimflüssen gefunden, die durch ihren Duft *Drosophila*-Imagines und zahlreiche andere Insekten anziehen. Flüsse dieser Art kommen fast

nur an Eichen vor. Ihre Mikroflora besteht nach den Untersuchungen von LUDWIG (1886), HANSEN (1889, 1892) und HOLTZ (1901) aus einem Pilz der Gattung *Oidium*, einer Hefeart und zahlreichen Bakterienformen. Die Aufzucht der vorhandenen Larven ergab ausschließlich die beiden Arten *D. obscura* und *D. silvestris* (Tabelle 14). Außer *Drosophila*-Maden waren meist auch Larven des Käfers *Soronia grisea* anwesend. In den *silvestris*-reichen Substraten 3 und 4 fanden sich überdies einige große Syrphidenlarven (von *Ferdinandea cuprea*). Stets

Tabelle 14. Zuchtergebnisse aus fünf gärenden Saftflüssen an Eichen.

Nr.	Datum	<i>silvestris</i>	<i>obscura</i>
1	17. 6. 52	1	7
2	1. 7. 52	—	4
3	25. 6. 53	38	1
4	23. 7. 53	7	1
5	4. 8. 53	—	1

der Rinde angesammelt, so finden sich darin gewöhnlich Mückenlarven und -puppen der Gattung *Dasyhelea*. Nur in einem Fall wurden in einer Baumwunde mit geringem braunen Saftaustritt 3 Larven von *D. obscura* gefunden. Es ist jedoch möglich, daß hier zur Zeit der Eiablage eine Gärung bestanden hatte, denn die Umwandlung eines gärenden in einen dunkelbraunen Saftfluß wurde in anderen Fällen beobachtet.

Ein eigenartiger, geruchloser Schleimfluß am Stamm einer Buche (alter Blitzschlag) ergab bei der Aufzucht 4 *D. obscura* und einige Individuen der Mücke *Mycetobia pallipes*.

Große Saftflüsse von lehm-breiartigem Aussehen (an Ulme, Linde und Roßkastanie) enthielten keine *Drosophila*-Larven. Es waren vielmehr nur Stadien von *Dasyhelea* und größere Mückenlarven (*Phryne*?) anwesend. Am Saft hielten sich die Syrphide *Brachyopa bicolor* und die *drosophila*-ähnliche Fliege *Aulacigaster leucopeza* auf.

Obwohl in bestimmten Saftflüssen Larven vom *obscura-silvestris*-Komplex vorkommen, scheint hier nicht die eigentliche Brutstätte dieser Arten vorzuliegen. Die gärenden Schleimflüsse an Eichen sind nämlich erstens sehr selten (aber durch Anflug von großen Fliegen und Wespen auffällig und leicht zu finden) und zweitens nur von kurzer Dauer (1—4 Wochen). In keinem Fall habe ich *Drosophila*-Puppen in situ gefunden. Die anfliegenden Imagines suchen in erster Linie Nahrung und die Zahl der Eiablagen ist relativ gering. Überdies fällt auf, daß in 4 von insgesamt 7 Fällen (Tabelle 14 und zwei weitere Angaben im Text) nur Larven von *D. obscura*, nicht aber von der viel häufigeren *D. silvestris* anwesend waren. Indirekte Befunde (dichteste Populationen in Wäldern mit hoher Bodenfeuchtigkeit, S. 27 ff.) lassen vermuten,

enthält der Pilzschleim große Mengen von Nematoden der Gattung *Anguillula*.

Häufiger zeigt sich an verletzter Eichenrinde eine dünnflüssige, dunkelbraune Saftausscheidung, die keinen aromatischen Geruch besitzt und keine Insekten anlockt. Ist sie reichlicher und in Höhlungen unter

daß zumindest *D. silvestris* sich normalerweise in Substraten am Waldboden entwickelt.

Andere, nicht zur *obscura*-Gruppe gehörige *Drosophila*-Arten wurden von verschiedenen Autoren aus Hutzpilzen gezüchtet, so *D. transversa* (GERCKE, nach KRÖBER 1935, DUDA 1935, CARSON 1951, BASDEN 1952), *D. phalerata* (GERCKE, BASDEN), *D. testacea* (BURLA 1951, DUFOUR, nach DUDA 1935), *D. histrio* (GERCKE) und *D. cameraria* (BASDEN 1952, VILLENEUVE, nach DUDA 1935). Einige dieser Arten sind vermutlich weitgehend auf Pilznahrung spezialisiert, vor allem *D. transversa*, welche trotz ihrer geringen Populationsdichte auffallend häufig in Pilzen gefunden wird, und *D. cameraria*, welche gärendes Obst nur unter extremen Bedingungen aufsucht (S. 12). Dagegen ist die sehr häufige *D. phalerata* eine polyphage Art. Ihre Larven wurden nach KALTENBACH (1874) zwischen faulenden Blättern von *Allium porrum* gefunden. Eine eigene Beobachtung zeigt, daß auch tierische Substrate für diese Art in Frage kommen. An den feuchten Wänden eines Glasröhrchens, in dem ein *Drosophila*-Fang lebend aufbewahrt wurde, waren die anwesenden *Phryne* festgeklebt und verendet. Nach einigen Tagen wurden unter den toten Tieren *Drosophila*-Larven bemerkt. Diese wuchsen rasch heran und ließen von den Mücken zuletzt nur die Chitintteile übrig. Gleichzeitig gebotener Hefenährboden wurde verschmäht. Die Larven gelangten zur Verpuppung und ergaben ausschließlich *D. phalerata*.

Herr Prof. Dr. H. BLUNCK teilte mir freundlicherweise mit, daß in seinem Labor in Bad Godesberg einige *Drosophila*-Arten aus geschädigten Rosenkohlpflanzen gezüchtet worden sind. Die Larven und Puppen fanden sich in Röschen, die von *Chortophila brassicae* befallen und teilweise in Fäulnis übergegangen waren. Die Fliegen schlüpften im Oktober. Die Prüfung des mir zugesandten Materials ergab, daß es sich um die drei Arten *D. busckii*, *D. fenestrarum* und *D. limbata* handelte.

IX. Feinde und Parasiten von *Drosophila*.

In einer Saftflußprobe wurden einige getötete und angefressene *Drosophila*-Larven bemerkt. Da 3 Käfer der Art *Glischrochilus olivieri* anwesend waren, nahm ich diese heraus und bot ihnen in einem Glasröhrchen etwas Nährboden mit Larven und Puppen von *D. melanogaster* an. Es zeigte sich, daß keine einzige Fliege zur Entwicklung kam. Auch die vorhandenen Puppen wurden von den Käfern leergefressen. Die *Glischrochilus*-Arten suchen gärende Substrate auf und werden daher auch in den Trichterfallen regelmäßig gefunden. Es ist wahrscheinlich, daß sie wichtige natürliche Feinde der unreifen Stadien von *Drosophila* darstellen.

Aus einem *D. subobscura*-Weibchen (Arnsberger Wald, 8.9.53) bohrte sich bei der Konservierung in Alkohol ein Fadenwurm aus der

Familie der Mermitiden hervor. Trotz der ansehnlichen Größe des Parasiten war das Wirtstier noch in der Lage gewesen, die Falle anzufliegen.

X. Diskussion. — Das Artenpaar *D. silvestris-obscura*.

Eine dauernde Existenz zweier eng verwandter Tierarten im selben Lebensraum ist nur möglich, wenn ihre ökologischen Eigenschaften so beschaffen sind, daß eine Verdrängung der einen Art durch die andere vermieden wird (GAUSEs Prinzip). Der denkbare Fall, daß beide ökologisch gleich sind und folglich genau denselben Selektionswert haben, scheidet praktisch aus, da er infolge der genetischen Variabilität aller Lebewesen nur bei Teilkollektiven einer panmiktischen Population, nicht aber bei zwei sexuell isolierten Arten verwirklicht sein kann. Vielmehr

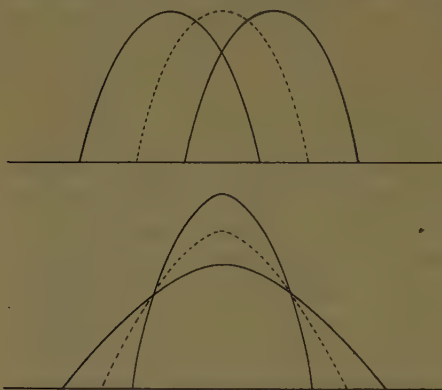


Abb. 13. Schemata möglicher ökologischer Verschiedenheit bei zwei nahe verwandten Spezies. Ordinate: Vitalerfolg. Abszisse: ökologische Bedingungen. Eine ökologisch intermediäre Form (gestrichelte Kurve) ist zumindest im Fall II nicht konkurrenzfähig.

ist obige Forderung praktisch nur erfüllt bei bestimmten Formen ökologischer Verschiedenheit, welche in Abb. 13 durch zwei stark vereinfachte Schemata veranschaulicht sind. Die Kurven, die wir dort sehen, stellen den Vitalerfolg (adaptive value DOBZHANSKY) in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen dar. Im einen Fall liegen die Erfolgsmaxima an verschiedenen Punkten der ökologischen Skala, und jede der beiden Arten ist in einem bestimmten Bereich außer Konkurrenz der anderen. Die Arten sind ge-

wissermaßen ökologisch gegeneinander verschoben. Im anderen Fall decken sich die Optima; beide Arten leben, bildlich gesprochen, in der gleichen ökologischen Nische, doch ist die Art A im Zentrum der Nische eindeutig überlegen, während B in den Randgebieten erfolgreicher und teils außer Konkurrenz ist. A und B stehen also im Verhältnis einer stenöken und einer euryöken Art zueinander.

Das Artenpaar *D. silvestris-obscura* scheint nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit weitgehend dem letztgenannten ökologischen Schema zu entsprechen. Es wurden folgende Tatsachen festgestellt: 1. Die größten beobachteten Populationsdichten beider Arten befanden sich am gleichen Standort. Dies spricht für ein übereinstimmendes Optimum. Da bei den besonders günstigen Vermehrungsbedingungen, die an den Plätzen größter Fangzahlen gegeben sein müssen, die Kon-

kurrenz vermindert ist, konnten beide Arten — auch die im optimalen Bereich unterlegene — maximale Populationen bilden. 2. Im Vergleich Eiche-Buche zeigt sich *D. silvestris* weitgehend auf feuchte Eichenbiotope spezialisiert, während *D. obscura* eine weniger strenge Bindung und damit eine größere ökologische Valenz erkennen läßt. 3. Im Verhältnis zu *D. silvestris* ungewöhnlich hohe Anzahlen von *D. obscura* wurden in einem ziemlich trockenen und dem Winde ausgesetzten Eichenbiotop (Nr. 30) festgestellt. Durch die etwas ungünstigen Bedingungen dieses Platzes wurde *D. silvestris* offenbar behindert, so daß *D. obscura* sich mehr entfalten konnte. 4. Die Fehlerwerte in der Biotopstatistik sind bei *D. obscura* bis zu 4mal so hoch wie bei *D. silvestris*, d. h. jene Art zeigt in ihrem quantitativen Vorkommen weit größere Unregelmäßigkeiten als diese. Eine solche unterschiedliche Konstanz dürfte charakteristisch sein für zwei konkurrierende Arten von ungleicher Häufigkeit. Angenommen, die gemeinsame ökologische Nische würde zu 80% von der einen und zu 20% von der anderen Art ausgenutzt, so ist leicht einzusehen, daß eine Veränderung dieses Prozentsatzes für die dominierende Art eine relativ geringe, für die unterlegene Art aber eine relativ große Änderung der Populationsdichte bedeuten würde. 5. Das gemeinsame Vorkommen der Larven beider Arten in Saftflüssen der Bäume spricht für eine weitgehende biologische Ähnlichkeit. Da jedoch in vier von sieben Fällen, darunter zwei etwas abweichenden Substraten, nur *D. obscura* anwesend war, zeigt sich auch hier die größere ökologische Valenz dieser einen Art. 6. *D. silvestris* wird fast nur in den Sommermonaten gefunden, während *D. obscura* auch in der kühleren Jahreszeit (März—April, Laubfallperiode) aktiv ist. Erstere ist also auf einen engeren Temperaturbereich eingestellt als letztere.

Von einer stenöken Art ist zu erwarten, daß sie nur unter speziellen Klima- und Biotopbedingungen und damit nur in eng begrenzten geographischen Gebieten erfolgreicher ist als eine konkurrierende euryöke Art. Dies wird durch die bisher bekannten faunistischen Tatsachen für *D. silvestris* bestätigt. Das Verbreitungsgebiet der Art erstreckt sich von Schottland und dem nördlichen Norwegen bis Südfrankreich. Im größten Teil dieses Areals ist sie jedoch *D. obscura* zahlenmäßig unterlegen. In der Schweiz ist sie ausgesprochen selten (BURLA 1951, als „*obscura*-X“). HADORN und Mitarbeiter erbeuteten in Frankreich nur wenige Individuen (persönliche Mitteilung). In Schottland und in Dänemark (Mitteilungen von Herrn Dr. E. B. BASDEN und Herrn O. FRYDENBERG) ist die Art in Laubwäldern sehr verbreitet, doch ist auch hier *D. obscura* wesentlich (3—4mal) häufiger. Der untersuchte Teil Westfalens ist in der Tat das einzige unter den bisher durchforschten Gebieten Europas, in welchem *D. silvestris* dichtere Populationen bildet als *D. obscura*. Selbst in den westlichen und mittleren Niederlanden sind

die faunistischen Verhältnisse bereits ganz anders (SOBELS und Mitarbeiter, im Druck).

Man darf annehmen, daß *D. silvestis* und *D. obscura* aus isolierten geographischen Rassen einer gemeinsamen Stammart hervorgegangen sind (durch eiszeitliche Arealaufspaltung?). Ihre ökologischen Eigenschaften sind demnach zumindest teilweise eine Folge der Selektionsbedingungen in den Entstehungsgebieten. Der Unterschied in der ökologischen Valenz beider Arten ließe sich denn auch leicht erklären durch die Annahme, daß *D. obscura* im Bereich kontinentalen Klimas, *D. silvestris* dagegen im atlantischen Gebiet ursprünglich beheimatet ist. Die bisher bekannten Tatsachen des geographischen Vorkommens reichen nicht aus, diese Hypothese zu stützen oder sie zu widerlegen. Bei dem Migrationsvermögen von *Drosophila* kann es durchaus sein, daß der historische Tatbestand bereits verwischt ist, und daß die heutige Verbreitung beider Arten nur durch die ökologischen Ansprüche und die interspezifische Konkurrenz bestimmt wird.

Die Verschiedenheit der Selektion in den Ursprungsgebieten ist also sehr wahrscheinlich die Ursache der ökologischen Ungleichheit der beiden Arten. Es ist jedoch anzunehmen, daß die ökologische Differenzierung hierdurch nur eingeleitet wurde. Die heutige „Form“ der beiden Spezies wurde vermutlich erst geschaffen, als sie gemeinsame Areale besiedelten und in Konkurrenz miteinander traten. Ökologisch intermediäre Individuen (gestrichelte Kurve in Abb. 13) waren nunmehr in allen Bereichen unterlegen. Positiven Selektionswert hatten allein die extremen Eigenschaften, also für die Art *D. silvestris* die Spezialisierung, für *D. obscura* die Euryökie. Der vorhandene Unterschied wurde somit weiter vertieft. Es liegt hier eine einfache Folgerung aus GAUSEs Prinzip vor, und es dürfte allgemein im Evolutionsgeschehen diese Regel gelten, daß die Begegnung zweier Arten sich in einer Vergrößerung ihrer ökologischen Divergenz auswirkt.

Zusammenfassung.

1. In drei landschaftlich verschiedenen Gebieten Westfalens wurde das Vorkommen der *Drosophila*-Arten in Waldbiotopen quantitativ untersucht. Die Fänge wurden mittels Trichterfallen ausgeführt. Es wurden 24 Arten festgestellt, darunter die bisher aus Österreich, der Schweiz und dem schlesischen Gebirge bekannte *D. unimaculata* STROBL. Die Art *D. silvestris* BADEN ist im Gebiet weit häufiger als die nahe verwandte *D. obscura* FALL.

2. Der Einfluß verschiedener Witterungsverhältnisse sowie des Köderzustandes (frisch oder alt) auf die Fangergebnisse wurde experimentell geprüft. Fänge an offenen Ködermassen (Methode von BURLA)

ergaben im Vergleich zu den Trichterfallen sehr hohe Anzahl von *D. subobscura*.

3. Der jahreszeitliche Massenwechsel der einzelnen Arten in den zwei Sommern 1952 und 1953 wird dargestellt und beschrieben. Im Jahre 1952, nach einem milden Winter, trat die eingebürgerte Art *D. immigrans* in großer Anzahl auf.

4. Während der herbstlichen Laubfallperiode zeigen die meisten *Drosophila*-Arten eine auffällige Aktivitätssteigerung („Torschlußaktivität“), welche durch geeignete Fänge näher untersucht wurde. Die Freilandart *D. subobscura* zieht sich zur Laubfallzeit in die Bodenregion des Waldes zurück.

5. Durch statistische Fänge in den zwei Biotopen Eichenwald und Buchenwald wurde festgestellt, daß *D. silvestris* weitgehend an Eichenstandorte gebunden ist. Ein Vergleich zwischen Querceto-Carpinetum und Querceto-Betuletum ließ eine klare Bevorzugung des mesophilen Biotops durch *D. kuntzei* erkennen.

6. Genauere Untersuchungen im Mittelgebirge ergaben, daß *D. silvestris* im Eichen-Auewald die weitaus besten Entwicklungsmöglichkeiten findet, aber infolge Migration der Imagines oft auch in ungünstigen Biotopen zahlreich anzutreffen ist.

7. Das Vorkommen der Arten *D. fenestrarum* und *D. forcipata*, welche nicht auf den Obstköder reagieren, wurde durch Netzfänge studiert. Beide Arten wurden in großer Zahl in feuchtem Gestrüpp oder Schilf, seltener auf Wiesen gefunden. *D. fenestrarum* bevorzugt mehr den Wald, *D. forcipata* mehr das offene Gelände.

8. Durch vergleichende Köder- und Netzfänge konnte gezeigt werden, daß *D. limbata* sich fast nur in Gestrüppbiotopen aufhält, während *D. kuntzei* diese weitgehend meidet. *D. phalerata* und *D. transversa* werden ebensowohl im Gestrüpp wie außerhalb gefunden.

9. In gärenden Schleimflüssen an Eichen wurden Larven von *D. obscura* und *D. silvestris* gefunden. Die Biozönose dieser und anderer Saftflüsse wird kurz beschrieben. Larven von *D. phalerata* können nekrophag an Insektenleichen leben.

10. Zwei Beobachtungen über Feinde und Parasiten von *Drosophila* werden mitgeteilt.

11. Der ökologische Unterschied und die vermutliche Entstehung der beiden eng verwandten Arten *D. obscura* und *D. silvestris* werden diskutiert.

Literatur.

BASDEN, E. B.: Some *Drosophilidae* (Diptera) of the British Isles. Entomol. Mag. 88, 200—201 (1952). — The distribution and biology of *Drosophilidae* (Diptera) in Scotland, including a new species of *Drosophila*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh

(im Druck). — BURLA, H.: Systematik, Verbreitung und Ökologie der *Drosophila*-Arten der Schweiz. Rev. suisse Zool. 58, 23—176 (1951). — BUZZATI-TRAVERSO, A.: Morfologia, Citologia e Biologia di due nuove specie di *Drosophila*. Ist. Lombardo Sci. Lett. Rendic. 77, 1—13 (1943). — CAIN, A. J., J. E. COLLIN and V. R. DEMEREC: Correct application of the name *Drosophila obscura* FALLÉN and notes on the type of *D. tristis* FALLÉN (*Dipt. Drosophilidae*). Entomol. Mon. Mag. 88, 193—196 (1952). — CARSON, H. L.: Contrasting types of population structure in *Drosophila*. Amer. Naturalist 86, 239—248 (1952). — CARSON, H. L., and H. D. STALKER. Reproductive diapause in *Drosophila robusta*. Proc. Nat. Acad. Sci. 34, 124—129 (1948). — Natural breeding sites for some wild species of *Drosophila* in the eastern United States. Ecology 32, 317—330 (1951). — COLLIN, J. E.: Notes on some *Drosophilidae* (*Dipt.*) including five additional British species, two of them new to science. Entomol. Mon. Mag. 88, 197—199 (1952). — DAcUNHA, A. B., TH. DOBZHANSKY and A. SOKOLOFF: On food preferences of sympatric species of *Drosophila*. Evolution (Lancaster Pa.), 5, 97—101 (1951). — DOBZHANSKY, TH., and C. EPLING: Contributions to the Genetics, Taxonomy and Ecology of *Drosophila pseudoobscura* and its relatives. Carnegie Instn. Publ. 554 (1944). — DUDA, O.: *Drosophilidae*. In E. LINDNER, Die Fliegen der paläarktischen Region, 58 g. Stuttgart 1935. — GORDON, C.: Natural breeding sites of *D. obscura*. Nature (Lond.) 149, 499 (1942). — HADORN, E., H. BURLA, H. GLOOR u. F. ERNST: Beitrag zur Kenntnis der *Drosophila*-Fauna von Südwest-Europa. Z. Abstammungslehre 84, 133—163 (1952). — HANSEN, E. C.: Über die in dem Schleimfluß lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. Zbl. Bakter. 5, 632 (1889). — Kritische Untersuchungen über einige von LUDWIG und BREFELD beschriebene *Oidium*- und Hefeformen. Bot. Ztg 50, 312—318 (1892). — HERTING, B.: Revision zweier europäischer *Drosophila*-Arten. Beitr. Entomol. 3, 166—168 (1953). — HOLTZ, W.: Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner. Zbl. Bakter. II 7, 113 (1901). — KALTENBACH, J. H.: Die Pflanzenfeinde aus der Klasse der Insekten. Stuttgart 1874. — KRÖBER, O.: Dipterenfauna von Schleswig-Holstein und den benachbarten westlichen Nordseegebieten. II. Verh. Ver. naturwiss. Heimatforsch. Hamburg 24, 61 (1935). — LEVER, J., and F. H. SOBELS: Some remarks on the occurrence of the genus *Drosophila* in the Netherlands. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Ser. C 54, 2—6 (1951). — LUDWIG, F.: Über Alkoholgärung und Schleimfluß lebender Bäume und deren Ursachen. Ber. dtsh. bot. Ges. 4, 17 (1886). — MAINX, F., TH. KOSKE u. E. SMITAL: Untersuchungen über die chromosomale Struktur europäischer Vertreter der *Drosophila-obscura*-Gruppe. Z. Abstammungslehre 85, 354—372 (1953). — MITCHELL, D. F., and C. EPLING: The diurnal periodicity of *D. pseudoobscura* in Southern California. Ecology 32, 696—708 (1951). — PATTERSON, J. T.: The *Drosophilidae* of the Southwest. Univ. Texas Publ. 4313, 7—216 (1943). — SOBELS, F. H., L. VLIJM u. J. LEVER: The distribution of the genus *Drosophila* in the Netherlands. Arch. néerl. Zool. (im Druck). — SPENCER, W. P.: On the biology of *D. immigrans* with special reference to the genetic structure of populations. Ohio J. Sci. 40, 345—361 (1940). — In M. DEMEREC, Biology of *Drosophila*. New York 1950. — TIMOFEEF-RESSOVSKY, N. W., u. E. A. Populationsgenetische Versuche an *Drosophila*. I. Z. Abstammungslehre 79, 28—34 (1940).

Dr. BENNO HERTING, Münster i. Westf.,
Museum f. Naturkunde, Himmelreichallee.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen.

INTRAGENERISCHE ISOLATION UND INTERSPEZIFISCHE KONKURRENZ BEI SPINNEN.

Von

ERWIN TRETZEL.

Mit 25 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. November 1954.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Einleitender Überblick.	43
Untersuchungsgebiet, Methodik, Nomenklatur	54
Vorbemerkungen und spezielle Begriffe	54
II. Möglichkeiten und Durchführung einer räumlichen und zeitlichen Sonderung.	56
1. Die räumliche Sonderung	56
a) Die horizontale räumliche Sonderung	56
b) Die vertikale räumliche Sonderung	65
2. Die zeitliche Sonderung.	69
3. Theoretische Möglichkeiten einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation	74
III. Allgemeine Erscheinungen der Synökologie, die sich als Auswirkungen interspezifischer Konkurrenz erklären	76
1. Die biozönotischen Grundgesetze	76
2. Die Abundanzstaffelung.	79
3. Der generische Koeffizient.	97
IV. Spezielle Feststellungen intragenerischer Isolation.	89
1. Terrestrische Assoziation	99
2. Assoziation höherer Strata.	109
V. Sonderregel und Ausnahmen	119
1. <i>Stylothorax agrestis</i> und <i>retusa</i>	121
2. Die <i>Porrhomma</i> -Arten der fränkischen Höhlen	123
3. <i>Lepthyphantes pallidus</i>	125
4. <i>Meta menardi</i> und <i>merianae</i>	128
VI. Räumliche und zeitliche Sonderung	129
VII. Das Problem der diplochronen Reifezeit	131
VIII. Gründe für die Artkonkurrenz	148
IX. Die intragenerische Isolation in Form einer räumlich-zeitlichen Sonde- rung bei anderen Tiergruppen	152
X. Schlußbetrachtung	156
Zusammenfassung	157
Literatur	159

I. Einleitender Überblick.

Die Wirksamkeit abiotischer Faktoren (Temperatur, Feuchtigkeit) in der Ökologie der Spinnen ist schon lange bekannt und in jüngster

Zeit genauer untersucht worden. Über die Wirkungsweise biotischer Faktoren, insbesondere der Artkonkurrenz, aber liegt noch kein klares Ergebnis vor. Selbst in der Ökologie der übrigen Tiere finden wir bis heute nur verhältnismäßig wenige konkrete Befunde und müssen uns im allgemeinen noch damit bescheiden, daß dieser interessante und wichtige Faktorenkomplex in den Standardwerken der Ökologie überwiegend nur als theoretische Überlegung erörtert wird.

Interspezifische Beziehungen sind naturgemäß schwer erfaßbar. Doch dürfte unsere Unkenntnis auch weitgehend auf eine mangelnde Gründlichkeit ökologischer Untersuchungen und auf planlose, unzureichende Sammelmethoden zurückzuführen sein. Voraussetzung für die Feststellung irgendwelcher interspezifischer Beziehungen ist eine möglichst genaue Kenntnis der *Autökologie* der Arten. Aber gerade diese wird in der modernen ökologischen Forschung vielfach zugunsten synökologisch-biozönotischer Studien vernachlässigt. Das heute so beliebte Untersuchungsziel scheint die faunistisch-ökologische Erfassung deutlich abgegrenzter Sonderbiotope zu sein. Es ist zweifellos interessant, welche Tiergruppen und -arten einen Sonderbiotop besiedeln, welchen biozönotischen Konnex sie erkennen lassen, aber für die Mehrzahl dieser Formen stellt der betreffende Biotop doch sicher nur einen willkürlich begrenzten Ausschnitt aus ihrem weiten Verbreitungsareal dar und es muß dahingestellt bleiben, wo der eigentliche ökologische Verbreitungsschwerpunkt dieser Arten liegt (vgl. GISEN 1947). Erfolgversprechender, aber zweifellos auch zeitraubender und mühevoller ist es, nicht von einem Biotop, sondern von den Arten einer Tiergruppe selbst auszugehen, durch sehr planmäßige und großräumig angelegte Zonenfänge den Verbreitungsschwerpunkt der einzelnen Arten innerhalb eines Untersuchungsgebietes zu ermitteln und durch Biotopvergleich die Faktoren zu analysieren, auf die diese Arten ansprechen. Der vom Biotop ausgehende Untersucher kann bei der Fülle des anfallenden Materials der Spezialisten nicht entbehren, der sich auf eine Tiergruppe konzentrierende aber kann selbst Spezialist sein und dies erscheint mir für autökologische Studien, die eine eingehende Kenntnis der Biologie der Arten verlangen, doch unumgänglich notwendig zu sein.

Auch STRENZKE (1951, S. 163) äußert einleitend die Anschauung, daß „in neuerer Zeit im Bereich der terrestrischen Ökologie und hier besonders in der Bodenzöologie — wie schon seit langem in der Hydrobiologie — eine gewisse Tendenz zur Bevorzugung der synökologischen Betrachtungsweise unverkennbar“ sei. „Einer der Gründe hierfür scheint, neben dem bekannten Verschwinden der Spezialisten für systematische Tiergruppen, darin zu liegen, daß auch die terrestrische Ökologie in immer größerem Umfange quantitative Erfassungsmethoden anwendet, die große Materialmengen kleiner und kleinster Formen liefern. Die so gewonnenen Ergebnisse fordern dann vielfach zur Aufstellung und Behandlung

komplexer ökologischer Einheiten geradezu heraus. Doch kann die Synökologie die Kenntnis der Ökologie der einzelnen Arten nicht entbehren, sobald sie sich von der rein deskriptiv-statistischen Erfassung der biozönotischen Einheiten deren kausaler Begründung und Unterbauung zuwendet.“ Auch TISCHLER (1951, S. 156) fordert, wenn auch mit geringerem Nachdruck, autökologische Untersuchungen und sagt: „Wenn LINDROTH (1949) der Ansicht ist, daß Synökologie ohne Kenntnis der Autökologie der Art nicht möglich ist, so ist dies zwar richtig, in der praktischen biozönotischen Forschung aber unerreichbar. Dafür gibt es zuviele Organismen in einer Lebensgemeinschaft. Immerhin müssen möglichst zahlreiche autökologische Untersuchungen durchgeführt werden, um Vorkommen oder Fehlen einer Art an einer Lebensstätte kausal erklären zu können.“ Unter den von TISCHLER genannten Methoden, die für autökologische Untersuchungen zur Verfügung stehen (Präferenda-, Resistenz- und Entwicklungsversuche) fehlt aber meines Erachtens die analysierende Freilanduntersuchung auf statistischer Grundlage, die zweifellos sehr wertvolle Ergebnisse erzielen kann und mindestens als Vorarbeit zu exakten experimentellen Untersuchungen zu werten ist, sofern sie nicht dem Experiment in mancher Beziehung sogar überlegen ist (vgl. hierzu die interessanten Ausführungen von THIENEMANN 1948).

In der Spinnenökologie ist die *Bedeutung abiotischer Faktoren* für Verbreitung und Verteilung früh erkannt worden. Schon den ältesten Autoren war aufgefallen, daß bestimmte Arten nur in besonders feuchten oder trockenen Lebensräumen zu finden sind. Aber bis in die jüngste Zeit zog es die Mehrzahl der meist systematisch orientierten Araneologen vor, sich mit ganz allgemein gehaltenen Fundortsangaben („auf Gebüsch“ oder „im Moos“) zu begnügen. Es ist ein besonderes Verdienst DAHLs (1908), die Abhängigkeit der von ihm grundlegend untersuchten Lycosiden von Bodenart, Feuchtigkeit, Bewuchs usw. erkannt und ihre Standortansprüche sehr genau und mit bemerkenswertem ökologischen Scharfblick festgelegt zu haben. DAHL ist es zu danken, daß in der Spinnenkunde der entscheidende Schritt von der reinen Faunistik zur Ökologie getan wurde. Leider wurde in der Folgezeit der von DAHL aufgezeigte Weg nicht konsequent weitergegangen. Nur einzelne weitere Autoren waren um die Festlegung der Standortansprüche bemüht. Insbesondere stellte WIEHLE die Vorzugsbiotope einer Reihe von ihm in der „Tierwelt Deutschlands“ bearbeiteten Spinnenfamilien klar, ohne aber dabei Einzelfaktoren eine ausschlaggebende Bedeutung zuzusprechen. WIEHLE scheint die Biotopbindung als komplex aufzufassen. Verfasser hat 1948 und 1952 versucht, neben der Herausstellung des Vorzugsbiotops den mikroklimatischen Komplex, auf den die im Untersuchungsgebiet gefundenen Arten anzusprechen scheinen, durch graduelle Abstufung der mikroklimabestimmenden Hauptfaktoren Feuchtigkeit und Belichtung (Sonneneinstrahlung) zu kennzeichnen und die Abhängigkeit vom Einzelfaktor durch verschiedene Bindungsgrade festzulegen. Durch diese ökologische Präzisierung, die freilich etwas schematisch wirken mag und der Natur ökologischer Bindungen Gewalt anzutun scheint, war es möglich, Differenzen im

ökologischen Charakter der Arten klar hervorzuheben. Diese Untersuchung stellt die Grundlage für die vorliegenden Erkenntnisse dar und sei daher erwähnt. Wohl konnte ich selbst die Richtigkeit dieser Faktorenkombination in mehreren Fällen an Material, das bei ökologischen Untersuchungen in anderen Gebieten angefallen und mir nebst Biotopbeschreibungen zur Bestimmung übergeben worden war, bestätigt finden, aber eine weitgehende Bestätigung von anderer Seite haben meine Ergebnisse bisher nur in den Arbeiten von KNÜLLE (1952 und 1953) gefunden. Für einzelne Arten wurde auch der experimentelle Nachweis ihrer Abhängigkeit von bestimmten physikalischen Faktoren (Feuchtigkeit, Temperatur) erbracht (PALMGREN 1939, SCHLOTT 1931, NØRGAARD 1951).

Über den *Einfluß* biotischer Faktoren auf die Verteilung der Spinnen, insbesondere über interspezifische Beziehungen, aber liegen, wie gesagt, noch keine exakten Ergebnisse vor. Auch BRISTOWE (1939—1941) geht in seinem bedeutenden Werk „The comity of spiders“ auf dieses Problem nicht weiter ein, macht aber einige sehr treffende Bemerkungen zur Konkurrenz, die unten an entsprechender Stelle noch erwähnt werden. BRISTOWE stellte bei seinen Untersuchungen der Inselgruppe der Scillyinseln, die früher in Zusammenhang gestanden haben, ein bestimmtes Verhältnis zwischen der Größe einer Insel und der Zahl der sie bewohnenden Spinnenarten fest. Die größte Insel dieser Gruppe ist beispielsweise von 3 Arten der Gattung *Xysticus* und von 6 Arten der Gattung *Lycosa* bewohnt. Je kleiner nun die Insel ist, um so mehr verringert sich die Zahl der Arten, mit denen diese Gattungen vertreten sind, so daß auf der kleinsten Insel nur jeweils eine Art zu finden ist. BRISTOWE bemerkt hierzu (1941, S. 229): „This same circumstance can be noted for each set of species with similar habits competing for the same set of insects. Although we must not blind ourselves to climatic and other factors it is probably fair to assume in a general way that those species which we find on one of these small islands have survived a struggle for existence with other species of similar size and habit.“ KNÜLLE (1953, S. 136 und 154) macht für Abundanzschwankungen bzw. „Biotopwechsel“ von *Erigone atra* und *dentipalpis* den „Konkurrenzfaktor“ verantwortlich und stellt bei *Erigone atra* und *arctica* Vikarianz fest.

Wirft man vergleichsweise einen Seitenblick auf die Untersuchungen an anderen Tiergruppen, die den Spinnen hinsichtlich Aufenthaltsort, Abhängigkeit vom Mikroklima und räuberischer Lebensweise wenigstens annähernd vergleichbar sind, so interessieren in diesem Zusammenhang vor allem die hervorragenden, auch auf experimentelle Untersuchungen gestützten Arbeiten von GÖSSWALD (1938) an Ameisen und von LINDROTH (1949) an Carabiden, in denen sich zwei grundverschiedene Ansichten über die Bedeutung biotischer Faktoren gegenüberstellen.

GÖSSWALD ist der Ansicht, daß die Biotopwahl der nicht erdbewohnenden Arten der Gattung *Leptothorax* durch Konkurrenzfaktoren bestimmt wird. Es sind dies Arten, „welche kaum geschützt zwischen Steinen oder unter einer dünnen Rindenschicht alle Witterungsextreme ertragen müssen . . . Da auch hier 100%ige relative Luftfeuchtigkeit optimal ist, stellen diese ökologisch widerstandsfähigen, sonst aber sehr schwachen und friedfertigen Arten Restnutzer des vorhandenen Lebensraumes dar. . .“ GÖSSWALD stellte fest, daß diese Ameisen nicht auf den extremen Wechsel von hoher und niedriger Temperatur angewiesen, sondern nur zum Ertragen solcher Extreme befähigt sind. Der Autor sieht also in der schwachen Vitalität der Gattung *Leptothorax* die Ursache für „das Einnehmen der ungewöhnlich nachteiligen Wohnplätze“. LINDROTH hingegen macht nur „abiotische Milieu-Differenzen“ für die Verteilung der Carabiden verantwortlich. „Für die Verbreitung der Carabiden spielen die biotischen Faktoren eine untergeordnete Rolle; bestimmend sind die abiotischen Existenzfaktoren (Klima und Boden), sowie die dynamischen Faktoren“ (Teil III, S. 562). „Sowohl auf Grund einer statistischen Untersuchung als auch der Erfahrung der Feldentomologen bekommt man also den Eindruck, daß die Konkurrenz um die Nahrung zwischen den verschiedenen Carabiden keine große Rolle spielt“ (S. 559). LINDROTH lehnt auch einen „Ausbreitungstrieb an sich“ ab und nimmt an, daß „der Anstoß zu einer individuellen Lokomotion in erster Linie durch Veränderungen des Milieus bedingt sein dürfte. Dagegen dürfte für die Carabiden eine übermäßige Populationsdichte äußerst selten — oder überhaupt nicht — zu derselben Erscheinung führen können“ (S. 609).

Über die Spinnenkunde hinaus bringt die vorliegende Untersuchung Beiträge zu wichtigen Fragen der allgemeinen Ökologie und Beispiele zum Problem der Artbildung durch jahreszeitliche Isolation.

Es zeichnete sich nämlich bei meinen ökologischen Untersuchungen an Araneen mit überraschender Deutlichkeit als die wesentliche Gesetzmäßigkeit ab, daß nächstverwandte Arten entweder die in der Tierökologie allgemein verbreitete und längst bekannte ökologische Sonderung oder die bisher nur vereinzelt beobachtete jahreszeitliche Sonderung zeigen. Außerdem kann die Wirkungsweise interspezifischer Konkurrenz an gewissen Phänomenen der Synökologie aufgezeigt und die Konkurrenz zwischen bestimmten Arten in Einzelfällen wahrscheinlich gemacht werden.

Das Grundprinzip der Sonderung der Arten hat schon DAHL beim Studium der Lycosiden erkannt und an verschiedenen Stellen wenigstens in allgemeiner Formulierung zum Ausdruck gebracht. Er stellte 1906 fest, „daß es unter den einheimischen Spinnen nicht 2 Arten gibt, welche genau die gleiche Stellung im Haushalte der Natur einnehmen. Die (etwa 70) Lycosidenarten Deutschlands . . . nehmen doch, jede für sich wieder einen ganz bestimmten Platz ein.“ Und an anderer Stelle (1921, S. 59) schreibt DAHL: „Schon lange weiß man, daß fast niemals 2 Tiere, auch wenn sie nahe verwandt und einander ähnlich sind, genau dieselbe Lebensweise führen, daß also auch fast niemals 2 Tierarten genau dieselbe Stellung im Naturhaushalt einnehmen. Recht klar zum Ausdruck gebracht wurde das wohl zum ersten Male durch J. F. NAUMANN

für die Vögel Deutschlands“. Im Prinzip treffen diese Gedanken das Richtige und zeugen von DAHLS ökologischem Weitblick. Natürlich ist „Stellung im Haushalte der Natur“ ein wenig prägnanter Begriff, der wohl dem Terminus „Stellenäquivalenz“ von TISCHLER (1951, S. 138) entsprechen dürfte. Nun kommen aber sowohl stellenäquivalente wie standortsgleiche Spinnen auch intragenerisch nicht selten vor. Der Vorgang und die Bedeutung einer zeitlichen Sonderung zwischen standortsgleichen Arten aber war DAHL, soweit ich sehe, nicht aufgefallen. Wird aber der Zeitfaktor nicht berücksichtigt, so kann diese Rechnung nicht ganz aufgehen.

Den Anlaß zu einer ökologischen und biologischen Sonderung zwischen verwandten Arten gab nach der Meinung des Verfassers eine wenigstens ursprünglich wirksame *interspezifische*, gelegentlich wohl auch *intraspezifische Konkurrenz*. Es liegt aber im Endeffekt einer Sonderung, daß der Konkurrenzdruck, der sie bewirkt hat, mit ihrer Durchführung aufgehoben ist oder zumindest stark nachgelassen hat und nur noch in Grenzbereichen wirksam sein kann. Inwieweit heute noch zwischen nunmehr gesonderten Arten spezielle und starke Konkurrenz besteht, wird von dem Grade der Sonderung abhängen, kann aber in keinem Falle gesagt und sicherlich auch durch experimentelle Untersuchungen nicht überzeugend festgestellt werden. Bei der Diskussion des Problems der interspezifischen Konkurrenz werden in der Literatur meist zwei (unter Umständen grundverschiedene) Phänomene zusammengefaßt: die durchgeführte, gesetzmäßige Sonderung nächstverwandter Arten (Gattungsvertreter), die eine *historische Konkurrenz* veranlaßt haben kann, und die *gegenwärtig bestehende Konkurrenz* zwischen Arten. Beide Phänomene sind mindestens zeitlich getrennt, indem im einen Falle eine angenommene Konkurrenz der Vergangenheit angehört, im anderen Falle in der Gegenwart wirksam ist. Beide Erscheinungen können aber ineinander übergreifen, wenn eine geographische, ökologische oder biologische Sonderung durch heute noch bestehende oder wieder aufgetretene Konkurrenz in Grenzbereichen oder Überlappungsgebieten aufrechterhalten wird. Die Phänomene sind aber vor allem auch erkenntnistheoretisch zu trennen: eine durchgeführte Sonderung ist nachweisbar, eine bestehende Konkurrenz aber im allgemeinen nur zu vermuten. Nachweisbar ist nur die mitunter sehr augenfällige Sonderung zwischen nächstverwandten Arten. Diese läßt sich, wie gesagt, in vielen Fällen als Folge einer ursprünglichen interspezifischen oder intraspezifischen Konkurrenz deuten. Doch würde die Annahme, daß nach vollzogener und damit feststellbarer Sonderung auch heute noch Konkurrenz bestünde, sowohl dem Zweck eines solchen Ausweichmanövers als auch der Vorstellung ihres Vorganges widersprechen. Gerade die Überlegung, wie es zu einer Son-

derung gekommen sein könnte, mahnt zur Vorsicht bei der Beantwortung der Frage, ob zwei nächstverwandte, heute gesonderte Arten (A und B) je miteinander in Konkurrenz gestanden haben. Es ist in manchen Fällen wahrscheinlich, daß ursprünglich eine andere Art (C) mit A konkurrierte und zu einer Sonderung Anlaß gegeben hat, bei deren Verlauf die Art B durch ökologische oder biologische Isolation gebildet wurde. A und B haben in diesem Falle niemals in unmittelbarer Konkurrenz zueinander gestanden. Eine ökologische und biologische Sonderung stärkeren Grades wird, wenn nicht immer, so doch häufig durch die Wirksamkeit von Isolationsmechanismen mit einer Rassen- oder Artbildung einhergegangen sein. Nach ihrer Trennung aber werden die Deszendenten aus Mangel an Berührungspunkten untereinander sicher weniger stark als mit anderen, auch entfernt verwandten, aber biologisch gleichartigen Formen mit ähnlichem ökologischen Charakter und gleicher Fortpflanzungszeit in allgemeine Nahrungs- und Raumkonkurrenz treten. Diese allgemeine intergenerische Konkurrenz innerhalb einer Biozönose dürfen und müssen wir annehmen. Sie findet ihren Ausdruck in verschiedenen synökologischen Gesetzmäßigkeiten, von denen unten noch die Rede sein wird. Eine bestehende Konkurrenz zwischen 2 Arten im natürlichen Biotop aber kann meines Erachtens gar nicht sicher bewiesen werden. Solange 2 Arten in ihrem Biotop überall in gleichem Abundanzverhältnis nebeneinander leben, besteht kein Anlaß, an eine spezielle Konkurrenz zu denken. Sobald sich aber in vermeintlich gleichartigen Biotopen starke Abundanzschwankungen bemerkbar machen und die relative Häufigkeit dieser Arten sich reziprok verhält, bleibt es letztlich immer fraglich, ob dafür nicht doch abiotische Faktoren verantwortlich zu machen sind. Soweit hier in Einzelfällen die Wirksamkeit bestehender Konkurrenz zwischen bestimmten Arten vermutet wird, werden diese Hinweise mit äußerstem Vorbehalt gemacht. Der überzeugende Beweis, daß 2 Freilandbiotope völlig gleichartig sind, läßt sich nicht führen. Und im experimentellen Versuch, denen die beiden der Konkurrenz verdächtigen Arten unterzogen werden, ist die Gefahr, daß ein für das Gedeihen einer Art entscheidender Faktor bei der Versuchsanordnung nicht in Rechnung gestellt worden ist, zu groß, als daß das Versuchsergebnis die Folgerung erlauben würde, die beiden Arten müßten diesen Konkurrenzeffekt auch im natürlichen Biotop zeigen. Auch GAUSE, der die Wirksamkeit der Konkurrenz bei Hefen und Protozoen in einer Reihe von Arbeiten experimentell untersucht hat, betont (1934a, S. 20) ausdrücklich, daß die Gesetzmäßigkeiten, die in isolierten Kulturen festgestellt wurden, ihre Richtigkeit nur unter bestimmten Bedingungen behalten und zur Erklärung all der komplizierten Erscheinungen in der Natur nicht ausreichen.

Es empfiehlt sich daher, die beiden Phänomene gegeneinander abzugrenzen und diese Abgrenzung auch in der Terminologie zum Ausdruck zu bringen. Es wäre zweckmäßig, nur die Beobachtungen und Vermutungen einer gegenwärtig wirksamen Konkurrenz zwischen Arten mit dem Begriff „*Interspezifische Konkurrenz*“ zu belegen, die Feststellungen einer historischen Sonderung zwischen Gattungsvertretern aber mit einem anderen Ausdruck zu kennzeichnen, wofür ich „*Intragennerische Isolation*“ vorschlage, einen Begriff, der in ziemlich unveränderter Wortgestalt auch in anderen Sprachen erscheinen könnte.

Die vermehrte Beschäftigung mit den Problemen der intragennerischen Isolation und der interspezifischen Konkurrenz in jüngster Zeit, vor allem seitens englischer und amerikanischer Ökologen, deutet darauf hin, daß die Ökologie, die bisher im wesentlichen nur den abiotischen Faktoren Rechnung getragen hat, soweit fortgeschritten ist, daß sich auch die biotischen Probleme in den Vordergrund drängen. Die Notwendigkeit einer Sonderung nächstverwandter Arten hat schon DARWIN (1859) erkannt. Die Erkenntnis ihrer Gesetzmäßigkeit aber erfolgte erst viel später. Sie wird GAUSE auf Grund seiner schon genannten experimentellen Untersuchungen zugeschrieben („GAUSE's Principle“: CROMBIE 1947 und ODUM 1953). PEARSE (1939, S. 215) verweist auf das Gesetz von CABRERA (1932) und ILLIES (1952) spricht vom MONARDSchen Prinzip (1920). Doch stellte schon STEERE (1894, S. 239) als Ergebnis seiner Untersuchungen über die Verbreitung der Vögel auf den Philippinen das „*Law of distribution*“ auf, nach dem „no two species near enough alike structurally to be adapted to the same conditions will occupy the same area“. Und CHANDLER (1914, S. 154) bemerkte im Rahmen seiner Studien über das Verhältnis von Gattungs- und Artenzahl bei der Verbreitung vor allem von Wirbeltieren, daß „nearly related species do not, as a rule, live comfortably together in the same environment“.

Da die intragennerische Isolation also schon früher von verschiedenen Autoren bemerkt und offenbar ohne Kenntnis voneinander als Gesetzmäßigkeit mehr oder minder klar formuliert wurde, empfiehlt es sich wohl, diese Gesetzmäßigkeit nicht mit einem bestimmten Autorennamen in Verbindung zu bringen, sondern nach ihrer allgemeinen Erscheinungsform als intragennerische Isolation zu bezeichnen.

Während MONARD (1920) der Meinung war, daß diese Gesetzmäßigkeit vor ihm noch nicht erkannt worden sei, erhebt CABRERA (1932) keinen Anspruch auf eine Erstformulierung. Er weist vielmehr darauf hin, daß schon andere Autoren die Aufmerksamkeit auf dieses Phänomen gelenkt hätten; bis heute aber scheine niemand die tatsächliche Bedeutung dieses Phänomens zugegeben zu haben, da nicht auf das direkte Verhältnis zwischen Verwandtschaftsgrad der Arten und ihre

ökologische Unverträglichkeit hingewiesen worden sei. Diese Unterlassung holt CABRERA nach, indem er an Hand zahlreicher Beispiele für die ökologische Sonderung nahverwandter Arten unter Säugetieren, Vögeln und Schnecken aufzeigt, daß die Verbreitung der Tiere einem Gesetz unterworfen sei, das er „Ley de incompatibilidad ecológica“ nennt und mit folgenden Worten formuliert (S. 252): „Las formas animales afines son ecológicamente incompatibles, siendo su incompatibilidad tanto mayor, cuanto más estrecha es su afinidad“ (Die verwandten tierischen Formen sind ökologisch unverträglich und diese Unverträglichkeit ist um so größer, je näher sie verwandt sind). CABRERA hält die Kenntnis dieses Gesetzes deshalb für so wichtig, weil es in enger Beziehung zu dem weitreichenden Problem der Artbildung stehe und die ökologische Sonderung nahverwandter Arten sich aus der „Speziation durch Adaptation“ erkläre.

Die Gesetzmäßigkeit der intragenerischen Isolation wurde aber bisher nur bei wenigen Tiergruppen und an kleinen systematischen Einheiten oder in kleineren, einheitlichen Lebensräumen studiert. Allgemein wurde sie aus der statistischen Feststellung abgeleitet, daß die einzelnen Gattungen in bestimmten Biotopen in der Regel mit nur einer Art vertreten sind. Aus dieser Berechnung hat MONARD (1920) bei seiner Untersuchung der Tiefenfauna des Lac du Neuchâtel das „Principe de tendance à l'unité spécifique“ abgeleitet, nach dem „dans un milieu uniforme, restreint dans le temps et l'espace, ne tend à subsister qu' une espèce par genre“ (S. 222). Dieser Formulierung, bei der er Betonung auf das Wort „tendance“ legt, ließ MONARD noch folgende Zusätze folgen: 1. „Si la tendance à l'unité spécifique n'est pas réalisée complètement, elle se marque toutefois par la fréquence et l'abondance d'une espèce aux dépens de ses congénères.“ 2. „Les variations saisonnières d'une faune s'établissent de façon à ce que les espèces d'un même genre se succèdent dans le temps et caractérisent chacune une saison différente.“

Als weitere wichtige Feststellung finden wir bei MONARD (S. 225): „Toutes les fois que deux espèces voisines sont en présence, l'une d'elles, ordinairement la plus cosmopolite et la plus eurytherme, tend à éliminer la seconde.“

Nachdem das MONARDSche Prinzip als Grundgesetz von THIENEMANN (1920) zu Unrecht abgelehnt und nur als „interessante Folgerung“ aus THIENEMANNs biozönotischem Grundgesetz angesehen worden war, geriet es in Vergessenheit und wurde in neueren Arbeiten völlig ignoriert. Erst ILLIES (1952) machte wieder darauf aufmerksam. Unabhängig von MONARD prüfte später vor allem ELTON (1946) das Verhältnis zwischen Gattungs- und Artenzahl bei 55 Tier- (und 27 Pflanzen-) Gemeinschaften in verschiedenen Breitengraden, im

Wasser und auf dem Lande. Der Prozentsatz der Gattungen, die im Biotop mit nur einer Art vertreten sind, beträgt für tierische Gemeinschaften im Mittel 86%. Diesen „rather constant and high percentage“ erklärt ELTON mit „existing or historical effects of competition between species of the same genus, resulting in a strong tendency for the species of any genus to be distributed as ecotypes in different habitats, or if not, to be unable to coexist permanently on the same area of the same habitat“. Unter den speziellen Untersuchungen über diese intragenerische Isolation verdienen vor allem die Arbeiten von LACK (1940, 1944, 1945, 1946) an Vögeln hervorgehoben zu werden. Dieser Autor fand beispielsweise bei der Untersuchung der ökologischen Beziehungen zwischen Gattungsvertretern britischer Sperlingsvögel (1944), daß nächstverwandte Arten in 3 Fällen geographisch gesondert sind, in 18 Fällen ökologisch, in 3 Fällen verschiedene Futterzonen im Habitat haben, in 1 Falle verschiedene Futterart und in einzelnen weiteren Fällen verschiedene Art des Nahrungserwerbes oder verschiedenen Winteraufenthalt. 1945 berichtete LACK über 2 Vertreter der Vogeltattung *Phalacrocorax* (Kormorane), die im gleichen Gewässer fischen und auf den gleichen Klippen nisten. Sie sind aber durch verschiedene Nistplätze und verschiedenartige Nahrung wenigstens biologisch gesondert. Entsprechende Beobachtungen machte LACK (1946) auch an deutschen Falken und Eulen. Zu analogen Ergebnissen war früher schon FORMOSOV gekommen. Er beobachtete eine große, gemeinschaftliche Kolonie von 4 Seeschwalbenarten auf der Insel Jorilgatsch am Schwarzen Meer, deren Nester nahe beieinanderstehen, die gemeinsam Räuber verjagen, die aber beim Nahrungserwerb artlich verschiedene Futterzonen aufsuchen und verschiedenartige Nahrung zu sich nehmen (aus dem unveröffentlichten Manuskript ref. von GAUSE 1934, S. 19). ILLIES (1952) gibt eine weitere Bestätigung der intragenerischen Isolation, indem er feststellte, daß sich in dem von ihm untersuchten Mittelgebirgsbach von jeder Tiergattung gewöhnlich nur eine Art findet. Wenn weitere Arten auftreten, so sind sie (abgesehen von Irrläufern) ökologisch oder biologisch gesondert.

Es ist nicht beabsichtigt, hier einen lückenlosen Überblick über die einschlägige Literatur zu geben und auch nicht notwendig, da CROMBIE (1947) diesem Problem der „Interspecific competition“ eine spezielle Abhandlung gewidmet hat und in ihr weitere Beispiele einer Sonderung verwandter Arten bringt. Allerdings scheint hier nur die englischsprachige Literatur berücksichtigt zu sein. CROMBIE schließt seine Ausführungen (S. 67):

„There is need for extensive ecological studies, such as that carried by LACK on birds, of the ecology and distribution of whole groups of related species. Investigations of this sort would provide a more accurate knowledge of the nature

of the differences between related organisms, and of the ecological factors involved in the origin of species."

Bei vorliegender Untersuchung kann diese intragenerische Isolation meines Wissens erstmals bei einer größeren und artenreichen Tiergruppe nachgewiesen und ihre Gesetzmäßigkeit durchgehend aufgezeigt werden. Soweit diese Gesetzmäßigkeit überhaupt Beachtung gefunden hat und auf Grund gewissenhafter ökologischer Untersuchungen geprüft worden ist, hat sie sich bestätigt. MAYR aber scheint sie bis zu einem gewissen Grade in Zweifel zu ziehen, wie aus einer Bemerkung (1949, S. 251) hervorgeht:

"It is obvious from this discussion, as we might add parenthetically, that no such rule exists as 'No two species of the same genus occur in the same locality'. This rule is supported by certain unscrupulous pseudotaxonomists, who use it as a thinly veiled excuse for the most reckless generic splitting. Rather the opposite is true; we find that the majority of the species of a genus have partly overlapping ranges."

Das 2. Phänomen, eine *bestehende interspezifische Konkurrenz*, ist bei einer Reihe näher und entfernter verwandter Arten verschiedener Tiergruppen beobachtet worden. Auch darüber bringt CROMBIE (1947) eine Übersicht. Weitere Beispiele und Literaturhinweise finden sich bei PEARSE (1939, S. 218). Experimentell wurde dieses Problem an Hefen und Protozoen (GAUSE 1934a—c, 1935, 1937) und vor allem an pflanzenfressenden Insekten untersucht (CROMBIE in mehreren 1947 zitierten und referierten Arbeiten, PARK 1948, BIRCH und Mitarbeiter 1951, u. a.).

Die Möglichkeit einer *Artbildung durch jahreszeitliche Isolation* wird schon lange in Rechnung gestellt. Man kennt aber bis heute nur sehr wenige Beispiele einer jahreszeitlichen Isolation¹. CUÉNOT (1933) stellte eine solche bei 2 Formen von *Sepia officinalis* fest. DOBZHANSKY (1939, S. 167) bringt hierfür einige Daten an kalifornischen Schmetterlingen. ALLEE und Mitarbeiter (1949, S. 617) geben weitere Beispiele von Bienen, Spannern, Heuschrecken, Termiten und Fischen. LACK (1945, S. 14) führt ein Beispiel einer „isolation by breeding season“ aus der Vogelwelt der Kergueleninsel an (*Sterna virgata* brütet dort im Oktober und November, während im Januar und Februar die gleichen Brutgebiete von *Sterna vittata* benützt werden). Weitere Beispiele einer „seasoned isolation“ bei Vögeln, Amphibien und Mikrolepidopteren gibt bzw. referiert MAYR (1949, S. 198 und 251). ILLIES (1952, S. 485) beobachtete jahreszeitliche Sonderung an zwei nahe verwandten Plecopterenarten, die beide im Oberlauf der Mölle leben (*Leuctra prima* hat von Januar bis April, *Leuctra nigra* von April bis Juli Flugzeit) und

¹ Herrn Prof. Dr. W. TISCHLER, Kiel, verdanke ich einige wertvolle Literaturhinweise.

stellte (S. 595) die Möglichkeit einer Artbildung durch „phänologische Isolation“ in Rechnung.

In dieser Arbeit kann gezeigt werden, daß die jahreszeitliche Isolation bei Spinnen eine große Rolle spielt. Die Vermutung, daß sie auch bei anderen Tiergruppen ausgeprägt ist, aber bisher keine Beachtung gefunden hat, wird S. 152 noch ausgesprochen werden.

Untersuchungsgebiet, Methodik, Nomenklatur.

Vorliegende Ergebnisse ließen sich aus meinen Untersuchungen über Autökologie und Reifezeit der Spinnen (1952 und 1954) ableiten. Sie sind textlich so gefaßt, daß sie im allgemeinen auch ohne Kenntnis dieser Arbeiten verstanden werden können. In einigen speziellen Feststellungen aber muß zur Raumersparnis auf die vorangegangenen Arbeiten verwiesen werden.

Die über mehrere Jahre laufenden Untersuchungen wurden im Raum von Erlangen (Bayern) durchgeführt und waren neben der Milde des örtlichen Klimas durch die Variabilität des *Untersuchungsgebietes* begünstigt. Die schon auf kleinem Raume wechselnden Verhältnisse des Untergrundes, der Bodenart, des Feuchtigkeitsgrades und der Bestockungsart erleichterten die Analyse der bei der Biotopbindung der Spinnen wirksamen abiotischen Faktoren.

Bei einem Fang von rund 35000 Individuen wurden **365 Arten** festgestellt. Die bisher noch nicht mitgeteilten Arten aus diesem Gebiet sind *Bathypantes approximatus* (CAMBRIDGE) und *Lophomma punctatum* (BLACKWALL), beide aus Erlenbrüchen¹.

Die *Fangmethode*, auf die diese Untersuchung sich im wesentlichen stützt, ist der Fang mit Äthylenglykolfallen nach BARBER und STAMMER, der bei Zonenfängen in großem Umfange eingesetzt wurde. Die Technik der Fallenstellung und „die Bedeutung der Äthylenglykolfallen für tierökologische und -phänologische Untersuchungen“ wurde von STAMMER (1948) beschrieben. Verfasser hat außerdem auf die besonderen Vorteile dieser Methode für die genaue Feststellung der Fortpflanzungszeit bei Spinnen hingewiesen (1954). Die Feststellung, daß neueste ökologische Untersuchungen an Spinnen und anderen Bodentieren aus Unkenntnis oder Skepsis ohne diese bewährte Methode durchgeführt werden, hat mich veranlaßt, auf ihre Wichtigkeit nochmals hinzuweisen und ein planmäßiges Vorgehen zur Erzielung vergleichbarer Ergebnisse zu empfehlen (im Manuskript).

Die *systematische Benennung* nach REIMOSER (1919), der ich in früheren Arbeiten mit der dort gegebenen Begründung gefolgt bin, wird zur Vermeidung von Synonymisierung auch hier beibehalten. Die ältere Systematik gewinnt hier den besonderen Vorteil, daß in ihr noch eine größere Zahl von Arten zu einer Gattung zusammengefaßt wird und dadurch die Gesetzmäßigkeit einer intragenerischen Isolation überzeugender zutage tritt. Zur Vereinfachung des Textes sind bei den hier behandelten Arten auch die Autorennamen weggelassen. Eine Verwechslung ist bei diesen bekannten Arten kaum möglich. Etwaige Zweifel würde das alphabetische Verzeichnis meiner in der gleichen Zeitschrift erschienenen Arbeit (1954) beseitigen.

Vorbemerkungen und spezielle Begriffe.

Es erscheint angebracht, folgende Bemerkungen voranzuschicken:

1. Die Glaubwürdigkeit und Beweiskraft der hier mitgeteilten Ergebnisse dürften durch den Hinweis erhöht werden, daß die festgestellte

¹ Den Fang dieser Arten verdanke ich den Herren Prof. Dr. H. J. STAMMER und Dr. D. MATTHES, Erlangen.

intragenerische Isolation vom Verfasser erst aufgedeckt und in solcher Gesetzmäßigkeit erfaßt wurde, nachdem der ökologische Charakter und die Fortpflanzungszeit der einzelnen Arten bereits festgelegt waren. Davon zeugt beispielsweise der bedeutungsvolle Fall einer jahreszeitlichen Sonderung der beiden *Coelotes*-Arten: bei knappen Bemerkungen über die zu vermutende Wirksamkeit biotischer Faktoren gab Verfasser 1952, S. 128, seiner Verwunderung darüber Ausdruck, daß die wegen gleichartiger Standortansprüche zu erwartende Konkurrenz der beiden *Coelotes*-Arten nicht festzustellen sei. Damals war mir noch nicht aufgefallen, daß diese Arten ja zeitlich scharf gesondert sind. Standortansprüche und Fortpflanzungszeit der einzelnen Arten wurden also nicht zur Schaffung oder Verdeutlichung interspezifischer Beziehungen aufeinander „abgestimmt“ oder konnten ganz unbewußt eine Verzerrung in dieser Richtung erfahren, sondern wurden nacheinander als Tatsachen festgelegt, aus denen sich erst später die hier mitgeteilten Befunde abgezeichnet haben. Dieser Sachverhalt gibt dem Verfasser das Bewußtsein von der Objektivität der festgestellten Beziehungen. Die überraschende und in solchem Umfange nicht erwartete Gesetzmäßigkeit einer räumlichen oder zeitlichen Sonderung nächstverwandter Arten aber spricht auch für die Richtigkeit der autökologischen Diagnosen und der Feststellung der Fortpflanzungszeit.

2. Bezüglich der Fortpflanzungszeit der Arten sei betont, daß ihre Abgrenzung jeweils zeitliche Mittelwerte darstellt, die, wie an anderer Stelle (1954, S. 644) erklärt ist, zur Ausschaltung klimatischer und standörtlicher Einflüsse durch Addition der Fänge einer Art in allen Fangjahren und an allen Standorten gewonnen wurden. Außerdem sind die Fänge nur monatsweise gerechnet. Trotz der dadurch erzielten breiteren Zeitwerte ist die zeitliche Sonderung wenigstens in der Lage der Höhepunkte der Aktivitätsperiode deutlich ausgeprägt. Sie würde vermutlich bei den Fängen eines Jahres und halbmonatlicher Rechnung noch schärfer zutage treten, doch wird dabei ihre Beurteilung durch die wesentlich geringeren Fangziffern sehr erschwert. Die Richtigkeit meiner Bestimmung der Fortpflanzungszeit hat inzwischen in einigen wichtigen Fällen winterreifer Spinnen (*Centromerus silvaticus* und *incilius*, *Centromerita bicolor*) durch DUFFEY und MILLIDGE (1954) Bestätigung gefunden.

Begriffe.

Zur knappen Kennzeichnung von Arten, die gleichen ökologischen Verbreitungsschwerpunkt oder gleiche Fortpflanzungszeit haben und daher räumlich oder zeitlich nicht gesondert leben, werden hier die Begriffe „isotop“ bzw. „isochron“ und als Gegensatz „heterotop“ bzw. „heterochron“ gebraucht. Der Begriff „Stellenäquivalenz“ von TISCHLER (1951, S. 138) läßt sich dafür leider nicht verwenden, da er entsprechend der „niche“ ELTONS „die gleiche Stellung und Rolle einer Art im Biotop“ bezeichnet und, wie TISCHLER betont, nicht nur räumlich

aufzufassen ist. „Isotop“ ist aber einfach räumlich im Sinne von standortsgleich aufzufassen.

Die Definition des von mir (1954, S. 676) im Anschluß an DAHLs Begriffe stenochron und eurychron (1921) geprägten Ausdruckes *diplochron* für Arten mit 2 Fortpflanzungszeiten im Jahr möchte ich zur Vermeidung von Mißverständnissen verbessern: „Als *diplochron* werden Arten bezeichnet, deren adulte Tiere zumindest im männlichen Geschlecht 2 zeitlich getrennte Aktivitätsperioden im Jahr zeigen, von denen wenigstens eine nachweislich eine Fortpflanzungsperiode ist.“ In allen bei Spinnen beobachteten Fällen ist der *Diplochronismus* in Haupt- und Nebenperiode der Aktivität differenziert. Erstere ist sicher die Fortpflanzungsperiode. Inwieweit in letzterer regelmäßige Kopulationen stattfinden, ist bei den verschiedenen Arten noch ungewiß. Die Ursache der Nebenaktivitätsperiode wird unten noch erklärt werden. Um irreführende Vorstellungen auszuschließen, werden in vorliegender Arbeit die früheren Bezeichnungen Haupt- und Nebenkopulationszeit oder -reifezeit durch die allgemeinen Ausdrücke *Primär- und Sekundärperiode* ersetzt.

Inzwischen wurde ich gewahr, daß GISLÉN schon früher (1944) den Begriff „bitemporal“ geprägt hat und darunter solche Formen versteht, „die normal nur während zweier intermittierender Perioden des Jahres an die Erdoberfläche kommen. Es ist also damit nichts darüber ausgesagt, ob sie in der Zwischenzeit als Eier, im Ruhestadium oder in der Erde wühlend vorkommen, auch nicht, ob es dieselben Exemplare sind, die im Herbst oder Frühling auftreten“ (S. 680). Im Gegensatz zu der allgemeinen Feststellung eines „bitemporalen“ Erscheinens nach GISLÉN wird hier mit „*diplochron*“ eine spezielle Aussage über eine periodische Aktivität, die mit der Fortpflanzung in Zusammenhang steht, gemacht.

II. Möglichkeiten und Durchführung einer räumlichen und zeitlichen Sonderung.

1. Die räumliche Sonderung.

Eine räumliche Sonderung kann bei Spinnen in der Horizontalen und in der Vertikalen durchgeführt werden. Erstere Richtung zeigt sich in der typischen räumlichen Distanzierung, letztere in der Besetzung verschiedener Strata.

a) Die horizontale räumliche Sonderung.

Unter dieser verstehen wir im allgemeinen eine großräumige Sonderung mit Beschränkung der Arten auf bestimmte geographische Gebiete (Nordeuropa — Südeuropa; Norddeutsche Tiefebene — Mitteldeutsches Bergland). Da wir aber hier nur den engen Bereich eines Untersuchungsgebietes von rund 20 km² ins Auge fassen wollen, soll davon nicht weiter die Rede sein. Innerhalb des Untersuchungsgebietes drückt sich diese Sonderung schon auf kleinstem Raum in der Wahl verschiedener Biotope aus (Wald — Wiese; Bestandsinneres — Bestandsrand), die wir mit differenten Standortansprüchen der Arten erklären. Diese Art der Sonderung wird nach ORTMANN als *ökologische Sonderung* bezeichnet. Auch sie ist als räumliche Sonderung, wenn auch auf kleinstem Raume, aufzufassen.

Die ökologische Sonderung zwischen 2 Arten kann in folgenden Hauptstufen zutage treten: (Ausgangspunkt: Die Verbreitungsschwerpunkte und Verbreitungskreise decken sich. Keine Sonderung. Dieser Modus ist bei den besser untersuchten Spinnen praktisch nicht zu beobachten.)

Sonderstufe I. Die ökologischen Verbreitungsschwerpunkte der beiden Arten decken sich, doch breitet sich die eine Art weiter aus als die andere und erscheint dadurch euryvalent gegenüber der anderen, stenovalenten Art (Abb. 1a).

Beispiele: *Bathyphantes concolor* — *nigrinus*; *Erigone atra* — *dentipalpis*; *Aranea raji* — *diadema*.

Sonderungsstufe II. Die Verbreitungsschwerpunkte liegen getrennt, die Verbreitungskreise überschneiden sich mehr oder minder (Abb. 1b).

Beispiele: *Trochosa ruricola* — *spinipalpis*; *Lycosa pullata* — *tarsalis*; *Oxyptila trux* — *brevipes*; *Lepthyphantes cristatus* — *mansuetus*; *Walckenaera acuminata* — *obtusa*.

Sonderungsstufe III. Die Verbreitungsschwerpunkte liegen getrennt, die Verbreitungskreise berühren sich in Randgebieten nur tangential (Abb. 1c).

Beispiele: *Aranea foliata* — *dumetorum*; *Tetragnatha extensa* — *solandri*; *Trochosa terricola* — *spinipalpis*; *Pirata latitans* — *hygrophilus*; *Clubiona phragmitis* — *lutescens*; *Dicymbium nigrum* — *tibiale*.

Diese Sonderungsgrade könnte man unter Umständen als Hauptstufen der Adaptation an verschiedenartige Standortverhältnisse und damit des Vorganges einer ökologischen oder geographischen Sonderung¹ auffassen. Es wäre aber sicher verfehlt, wollte man in ihnen die *regelmäßigen* Entwicklungsstufen eines solchen Vorganges erblicken. Der Grad einer ökologischen und (auf die Standortverhältnisse projiziert) räumlichen Sonderung wird neben Art und Größe der Mutationsschritte in Verbindung mit dem Selektionswert sehr wesentlich von der ökologischen Plastizität der Ausgangsform abhängen, von der sich die neu entstehenden ökologischen Charaktere ableiten. Reagiert beispielsweise die Stammart euryhygr und ist über trockene und feuchte Gebiete gleichmäßig verbreitet, so ist es denkbar, daß ihre Population

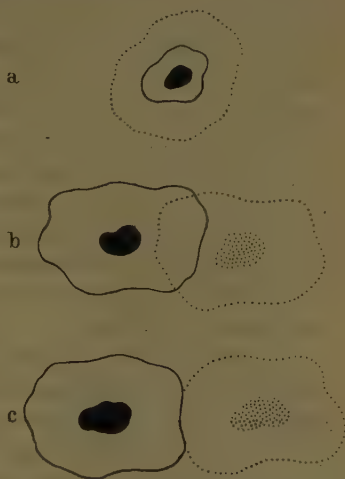


Abb. 1 a—c. Die 3 Hauptstufen einer räumlichen Sonderung zwischen 2 Arten.

¹ MAYR (1949, S. 193) hält es für irreführend, einen strengen Unterschied zwischen ökologischen und geographischen Rassen zu machen, da die Standortverhältnisse zweier Lokalitäten nie genau die gleichen sind und lokale ökologische Faktoren an der Bildung aller geographischen Rassen beteiligt sind.

allmählich in xerophile und hygrophile Rassen zerfällt. Auf diese Möglichkeit hat schon DAHL (1906) am Beispiel der Spinnen hingewiesen. Diesen Modus veranschaulicht MAYR (1949, S. 160, Fig. 16) und nach SIMPSON (1951, S. 279) ist dieser Vorgang eines der beiden Muster einer Speziation: eine weitverbreitete Population wird innerhalb ihrer adaptiven Zone in spezialisiere, subzonal adaptierte Gruppen differenziert. In diesem Falle würde die ökologisch-räumliche Sonderung ohne nennenswerte Übergangsstufen gleich zu einer vollständigen entwickelt werden. Es würden Arten mit stark differentem bis gegensätzlichem ökologischen Charakter (beispielsweise hygrobionte — xerobionte Arten; Wald- und Freilandformen) gebildet werden, deren Verbreitungsgebiete sich nur noch in Grenzbereichen tangential berühren, wie dies Stufe III zeigt. Eine Mutation kann aber nicht nur eine Änderung der Standortansprüche, sondern auch der ökologischen Valenz zur Folge haben oder zunächst nur diese. Mit einer solchen Änderung der Reaktionsbreite ließe sich Sonderungsstufe I erklären. Diese geht vielleicht in vielen Fällen einer ökologischen Adaptation voraus. Auch Stufe II kann als zunächst vollständige Sonderung aufgefaßt werden, doch ermöglichte in diesem Falle die sekundär erworbene größere Reaktionsbreite der beiden Arten eine weitere Ausbreitung, die zur Überlappung ihrer Verbreitungsgebiete führte.

Auf die Möglichkeiten und Vorstellungen des Vorganges einer geographischen bzw. ökologischen Sonderung soll hier nicht weiter eingegangen werden, da diese in der Literatur im Zusammenhang mit dem Artbildungsproblem hinreichend besprochen sind, wenngleich über die Bedeutung der ökologischen Isolation noch keine Einigung erzielt wurde und nach MAYR (1949, S. 190) die Frage, ob und in welchem Umfange die „sympatric speciation“ im Tierreich vorkommt, eines der umstrittensten Probleme auf dem Gebiet der Artbildung ist. Bei diesen vielfach sehr abstrakten Darstellungen ist aber eine Erklärung dafür zu vermissen, wie man sich die Bewegung der in einer Population auftretenden Mutanten in den ihnen adäquaten Biotop vorzustellen hat oder welche Kräfte „die Entfaltung und Ausbreitung einer Population über aneinanderschließende Subzonen einer Zone“ (das zweite Speziationsmuster SIMPSONs) bewirken. RENSCH (1933, S. 43) drückt die „zur Zeit vorherrschende Meinung der Genetiker über die Bildung geographischer Rassen“ folgendermaßen aus: „Die Ausbreitung in ein Gebiet mit veränderten Umweltfaktoren . . . führt zur Selektion bestimmter Mutanten oder Genkombinationen (natürlich nicht in jedem Falle). Dementsprechend ist eine Einwanderung in ein neues Gebiet im allgemeinen auch davon abhängig, daß bereits Mutanten vorhanden sind, die sich den neuen Milieufaktoren gegenüber als günstig erweisen (CUÉNOT: Präadaptation). Die geographische Isolation . . . führt dann ferner zu

einer Häufung kleiner Mutanten (Schrittmutanten')...“ Eine Verstärkung der rassenscheidenden Merkmale ist nach RENSCH dann noch durch Homogamie oder ein gerichtetes Mutieren möglich. Dieser Ansicht, in der die Vorstellung einer Einwanderung der Mutanten in ein Gebiet mit veränderten Umweltfaktoren klar zum Ausdruck gebracht wird (was andere Autoren offenlassen), ist folgende Überlegung entgegenzuhalten: Solange sich die Mutanten noch in dem ursprünglichen (angenommen optimalen) Biotop befinden, würde sich dieser nach mutativer Änderung ihrer Standortansprüche unter Umständen sogar in ein Pessimum verwandeln, dem sie schnell zum Opfer fallen würden. Abgesehen davon müßte sich hier ihr neuer Charakter durch Panmixie mit den hier gehäuften Normalindividuen alsbald verwischen. Standortverhältnisse und veränderte Standortansprüche müssen als glücklich zusammentreffen, wenn neue, lebensfähige physiologische Einheiten gebildet werden sollen. Es ist daher meines Erachtens notwendig, daß diejenigen Individuen, die eine Mutation erfahren, sich schon vorher in einem Lebensraum befinden, der sich von ihrem Ausgangsbiotop unterscheidet, in dem sie gerade noch existieren können und der nach Änderung ihres ökologischen Charakters für sie zu einem Optimum wird. Ein Besetzen solcher, einem Pessimum genäherter oder entsprechender *Randzonen des Verbreitungsareals* aber ist in der Regel nur denkbar durch *anhaltende Abdrängung* eines Teiles der Ausgangspopulation infolge intraspezifischer oder interspezifischer (oder kombinierter) Konkurrenz¹. Dadurch, daß bestimmte Mutanten nur in diesem Grenzbereich einen selektiven Vorteil genießen und sich hier (im Gegensatz zum Verbreitungszentrum) halten können, kommt es im Laufe der Zeit zu einer *Anreicherung* voll adaptierter Formen. Indem diese Mutanten dann in der Randzone untereinander weit häufiger zur Fortpflanzung kommen als mit den Individuen der Ausgangspopulation, kann sich auch ohne Hilfe trennender Schranken und vollständiger Isolation im Sinne einer „relativen geographischen Isolation“ (RENSCH 1954) eine neue Rasse herausbilden. Ihre Bildung wird weiter dadurch begünstigt, daß die Produktion dieser optimal adaptierten Formen weit höher sein kann als der in dieser Zone unter ungünstigen Verhältnissen lebenden Individuen der Stammart und der hier durch unvermeidliche Panmixie entstandenen Tiere. Während die Stammart in dieser Randzone die physiologischen Grenzen ihrer Ausbreitungsmöglichkeit zunächst er-

¹ Auch MAYR (1949) ist von der Bedeutung der Konkurrenz für die Artbildung überzeugt und äußert sich zu der Frage, welche Faktoren die Differenz zwischen entstehenden Arten vergrößern (S. 271): „Competition and predation are generally listed as the two most important factors to be considered in this connection. A survey of this field indicates, unfortunately, that our knowledge of the actual influence of these factors on the speciation process is still very slight. In fact, it is surprising how badly ecologists have neglected these questions.“

reicht hat, kann die voll adaptierte ökologische Rasse bei wachsender Populationsdichte von ihrem ökologischen Verbreitungsschwerpunkt aus neue Randzonen besiedeln und so ihren ökologischen Charakter über einen „adaptiven Rost“ (SIMPSON 1951) weiter verändern.

Dieser Erklärungsversuch steht in Widerspruch zur Ansicht WAGNERS (1898), der mit der Annahme von „Wanderlust“ und „Wandertrieb“ der Tiere der Konkurrenz nur untergeordnete Bedeutung einräumt und der zur Stütze seiner „*Separationstheorie*“ vollständig isolierender geographischer Schranken bedarf, die die Einzelwanderer oder die durch einen „Ausscheidungsakt“ gelösten Individuengruppen von ihrer Ausgangspopulation trennen. Das Dargelegte unterscheidet sich auch von der „*Eliminationstheorie*“ REINIGS (1938) darin, daß keine „Biotypenselektion im Verlaufe der Arealerweiterung zu einer Verarmung an Biotypen und damit zu einer Verminderung der Entstehungsmöglichkeit von neuen Ökotypen“ angenommen wird, die in der Nähe der absoluten Arealgrenzen nur noch die Besiedlung eines einzigen Standortes zuläßt, und keine „durch Einzelwanderungen herbeigeführte und unabhängig von der Selektion erfolgende Abnahme des Allelbestandes vom ... Ausbreitungszentrum bis zur absoluten Arealgrenze“. Mein Erklärungsversuch unterscheidet sich von anklingenden Theorien vor allem in den dynamischen Ursachen, dem zonalen Charakter und der Größe der Populationsbewegung, die etwa zwischen „Einzelwanderung“ und „Stammeswanderung“ (REINIG) liegen dürfte. Er mißt außerdem dem Adaptationsgrad der Individuen (Populations-teile) an die gegebenen Standorts- und Gebietsverhältnisse und der damit verbundenen Produktionsmöglichkeit eine besondere Bedeutung bei.

Eine erfolgreiche Migration von Mutanten aus dem Ausgangsbiotop in adäquate Lebensräume ist selbst bei Berücksichtigung ausbreitungsfördernder Mittel sehr unwahrscheinlich. Werden sie durch die für sie veränderten ökologischen Verhältnisse zu einer Wanderung veranlaßt, so wird diese planlos sein. Selbst wenn dabei der Wanderweg einzelner Individuen zur Erreichung geeigneter Lebensräume ausreichen sollte, dürften sich auf diese Weise in Anbetracht der niedrigen Mutationsrate so wenige Individuen in den erreichten Optima begegnen, daß der Fortbestand dieser Mutanten nicht gewährleistet sein kann.

Diese Erklärung läßt sich für das Zustandekommen einer geographischen und (wenn man den Unterschied machen will) ökologischen Speziation verwenden. Während die Ausbildung geographischer Rassen unter Zuhilfenahme isolationsfördernder Schranken leicht verständlich ist, *erscheint mir die Annahme einer anhaltenden Abdrängung von Populationsteilen in eine pessimale Randzone durch Konkurrenzdruck geeignet, die Schwierigkeiten bei der Erklärung einer schrankenlosen geographischen und vor allem ökologischen Rassenbildung zu verringern.* Nun vertritt

MAYR (1949, S. 187) die Ansicht, daß es keine geographische Speziation gibt, die nicht gleichzeitig ökologische und genetische Speziation ist. Diese Formulierung gestattet nicht ohne weiteres die umgekehrte Folgerung, daß es keine ökologische Speziation gebe, die nicht gleichzeitig geographische sei. In seinem letzten Werk (1953, S. 32) aber spricht MAYR diese Umkehrung wörtlich aus: „... there is no ... ecological race that is not also a geographical, or at least a microgeographical, race.“ Dieser Autor schreibt (1949, S. 248) weiter: „Closely related sympatric species are often characterized by differences in their habitat requirements. One species may live in the forest, the other on open fields... We have already come to the conclusion in our discussion on sympatric speciation that such ecological differences develop during geographic isolation... Where two welldefined subspecies of one species occur at the same locality, but in different habitats, it is evident in most cases that these differences first originated in geographically isolated populations which formed overlapping ranges by secondary expansion.“ Die Entstehung ebenso zahlreicher wie verschiedenartiger ökologischer Charaktere läßt sich aber meines Erachtens mit geographischer Isolation allein nicht ausreichend erklären, sonst könnte die Einpassung der Arten in die vielgestaltigen Lebensräume bei gleichzeitiger ökologischer Sonderung nahverwandter Formen nicht so vollkommen und lückenlos durchgeführt sein, wie dies gerade die Spinnen zeigen. Wir kennen einerseits geographisch vikariierende Arten mit entsprechendem ökologischen Charakter und andererseits Arten mit annähernd gleichem Verbreitungsgebiet, die aber verschiedenartige und durchaus erbteste Standortansprüche zeigen. Außer einer geographischen dürfte also auch eine ökologische Isolation stattgefunden und bei der Speziation eine entscheidende Rolle gespielt haben. Auch THORPE (1945) ist nicht der Ansicht MAYRS, daß geographische Isolation *stets* einer anderen Art von Isolation vorausgehen müsse und sieht geographische, topographische und ökologische Isolation als verschiedene Stufen der räumlichen Isolation an. Und LACK ist der Auffassung, „that the birds new species have arisen primarily through geographical isolation, and that ecological isolation is enforced through competition when two species later meet in the same area“ (ref. CROMBIE 1947, S. 64).

Ist bei vollständiger ökologischer Sonderung zweier Arten, wie sie in Stufe III vorliegt, eine Konkurrenz aufgehoben, so sind in Sondierungsstufe I hingegen Berührungspunkte und Anlaß zu starker Konkurrenz gegeben. Wir wollen nun an Hand der statistischen Befunde überlegen, ob bestimmte Erscheinungen auf die tatsächliche Wirksamkeit einer solchen schließen lassen. Von diesen Arten mit gleichem ökologischen Verbreitungsschwerpunkt, aber ungleichem Verbreitungskreis erscheint die eine stenovalent, die andere euryvalent. In der Regel

zeigt die Art mit der weiteren Ausbreitung im Schwerpunkt ihrer Verbreitung eine geringere Individuendichte als die stenotope Art. Beide Species erreichen aber an den gleichen Standorten ihre höchste Abundanz. Diese Beobachtung läßt sich nicht einfach arithmetisch damit erklären, daß die Individuenzahl einer Art bei weiterer Ausbreitung im optimalen Ausgangsbiotop absinken müsse. Sie würde vermutlich nicht absinken, wenn kein Anlaß zu einer weiteren Ausbreitung gegeben wäre; denn mit einem Ausbreitungstrieb an sich, der die Tiere in ein Pessimum drängt, kann nicht gerechnet werden. Als Anlaß dazu kann aber in solchem Falle nur interspezifische, nicht allein intraspezifische Konkurrenz in Frage kommen, da *ein Vergleich der Abundanzwerte beider Arten im Vorzugsbiotop zeigt, daß die Möglichkeit einer lokal dichteren Besiedlung von der euryvalent erscheinenden Art gar nicht ausgenützt wird.* Und gerade diese Folgerung, daß also die Art mit der weiteren Ausbreitung an einer dichteren Besiedlung ihres Verbreitungsschwerpunktes gehindert wird, scheint mir genügend darauf hinzudeuten, daß hier wirklich eine Abdrängung dieser Art durch interspezifische Konkurrenz vorliegt.

Im Blickwinkel des Konkurrenzproblems gesehen, müssen wir uns die für die ökologische Forschung auf statistischer Grundlage allgemein so wichtige Frage vorlegen, ob die festgestellte weitere Ausbreitung der einen Art als wirkliche Euryvalenz (im Sinne eines Reaktionsunterschiedes zur anderen Art) zu werten ist oder ob diese Euryvalenz nur durch eine Abdrängung seitens der vielleicht biologisch stärkeren Schwesterart vorgetäuscht wird. Möglicherweise wäre auch die stenovalent erscheinende Art zu weiterer Ausbreitung befähigt, wenn sie durch eine stärkere Art dazu gezwungen würde. Hier erhebt sich eine weitere, sehr schwierige Frage: inwieweit können gattungsgleiche Arten bei Spinnen biologisch stärker oder schwächer sein? Ein Stärkeunterschied kann einmal durch den meßbaren Größenunterschied gegeben sein. Die stenovalente *Erigone atra* beispielsweise ist mit 2—2,5 mm Gesamtlänge im Durchschnitt etwas größer als die euryvalente, abgedrängte *Erigone dentipalpis* mit 1,8—2,5 mm. Die stenovalenten Formen *Zelotes latreillei* (Weibchen 7—8 mm) und *Agroeca brunnea* (7—8 mm) sind deutlich größer als ihre euryvalenten Schwesterarten *Zelotes petrensis* (6—6,5 mm) und *Agroeca proxima* (5,5—7,5 mm; alle Maße nach LOCKET und MILLIDGE 1951—1953). *Bathypantes concolor* und *nigrinus* hingegen sind mit ihren 2,5—2,75 mm Körperlänge gleich groß. Solchen Arten dürfen wir also im großen und ganzen die gleiche Größe, die gleiche Beweglichkeit, die gleichen Waffen zugestehen. Die Gesamtheit ihrer Populationen ins Auge gefaßt, dürften ihre körperlichen Kräfte die gleichen sein. Soweit wir auch gewisse psychologische Charakteristika (Angriffslust usw.) bei beiden Arten mit etwa

gleichem Wert in Rechnung stellen wollen, die natürlich artliche Unterschiede zeigen können, und gleiche Vermehrungsrate annehmen, kann die Überlegenheit einer Art dann nur durch Außenfaktoren entstehen, insofern nämlich, als die eine Art in ihrem gemeinsamen Lebensraum ein Optimum findet, die andere aber nicht voll adaptiert ist. Es versteht sich von selbst, daß eine Art nicht in allen Teilen ihres geographischen Verbreitungsgebietes Standortverhältnisse findet, die ihrer absoluten physiologischen Reaktionsnorm voll entsprechen. Und daß der Grad der Adaptation an das gegebene Milieu eine entscheidende Rolle im Konkurrenzkampf spielen dürfte, zeigt sich vielleicht am deutlichsten bei der Ausbreitung von *Lepthyphantes pallidus* in Höhlen, wovon S. 125 noch die Rede sein wird. Eine Art, die unter dem Optimum lebt, wird biologisch schwächer sein und einer Verdrängung geringeren Widerstand entgegenzusetzen haben. Setzen wir für beide Arten gleiche Reaktionsbreite voraus, so ist es im allgemeinen wahrscheinlich, daß die schon suboptimal lebende Art sich nicht so leicht in ein Pessimum begeben kann wie die in absolut optimalen Verhältnissen lebende unter das Optimum gehen könnte. Da einer Ausweichbewegung der suboptimal lebenden Art physiologisch große Schwierigkeiten entgegenstehen, dürfte ihre Platzbehauptung besonders hartnäckig sein. Wir müssen also zusammenfassend folgern, daß die Ausbreitung der einen Art durch Abdrängung seitens der Schwesterart veranlaßt wurde, daß aber nur diejenige der beiden Arten ohne erhebliche Populationsverluste in gewissen Grenzen verdrängt werden kann, die physiologisch über die größere Reaktionsbreite verfügt. Daher dürfen wir dieser Art, die eine weitere Ausbreitung zeigt, auch eine echte Euryvalenz zugestehen. Schwieriger ist die Beurteilung der Frage, ob die stenotop bleibende Art auch stenovalent ist oder nur nicht zu weiterer Ausbreitung gezwungen wird. Liegen die von ihr besiedelten Biotope eines Gebietes weit unter dem Optimum, so bleibt ihrer Reaktionsbreite kaum mehr Spielraum, findet sie aber optimale Verhältnisse, so ist unwahrscheinlich, daß die mit Anwachsen der Populationsdichte in Erscheinung tretende intraspezifische Konkurrenz sich bei euryvalentem ökologischen Charakter nicht wenigstens in einem mäßigen Ausstrahlen aus dem Vorzugsbiotop in angrenzende, andersartige Biotope auswirken würde. Wir dürfen also wohl auch stenotope Verbreitung in den meisten Fällen gleichsetzen mit Stenovalenz. Die nach Verbreitung und Abundanz statistisch festgestellte Reaktionsbreite kann aber nur eine relative, d. h. auf die Verhältnisse des Untersuchungsgebietes bezogene, sein. Sie wird um so breiter erscheinen, je näher der Vorzugsbiotop einer Art im Untersuchungsgebiet ihrem absoluten, physiologischen Optimum liegt und je größere Teile des Gebietes diesen Vorzugsbiotop bieten und umgekehrt. Dies zeigt die Ausbreitung mancher Arten sehr deutlich.

Zonenfänge geben zu erkennen, daß Arten, die in den Biotopen ihres Verbreitungsschwerpunktes eine außerordentliche Besiedlungsdichte erreichen, sehr weit in andersartige Lebensräume ausstrahlen. Zahlreiche Individuen werden offenbar durch intraspezifische Konkurrenz abgedrängt und leben (verglichen mit dem Vorzugsbiotop) in einem Pessimium. Diese Erscheinung fällt im Untersuchungsgebiet vor allem bei folgenden Arten auf: *Dictyna arundinacea* (vgl. TRETZEL 1952, S. 54; diese autökologische Diagnose bestätigt und zitiert WIEHLE 1953, S. 90), *Mangora acalypha* (TRETZEL 1952, S. 62), *Meta reticulata typica* (TRETZEL 1952, S. 61). Unter diesen zeigt die photophil-xerophile *Mangora acalypha* diese Ausstrahlung am deutlichsten. Ihr Vorzugsbiotop wurde von mir (1952, S. 62) folgendermaßen beschrieben:

„Trotz des nahezu euryöken Erscheinungsbildes dieser Art müssen Heideflächen eindeutig als Vorzugsbiotop angesprochen werden. Da diese Gebiete ihren Standortansprüchen offenbar vollkommen entsprechen, worauf die ungewöhnliche Bevölkerungsdichte dieser Tiere schließen läßt, und zudem eine beträchtliche Fläche des Untersuchungsgebietes einnehmen, ist auch die Abdrängung der Tiere in andersartigen Biotop entsprechend groß und weit. So ist *M. acalypha* in sinkender Abundanz auch auf Wiesen verschiedener Feuchtigkeitsgrade und vereinzelt sogar in der Uferzone der Gewässer zu finden.“

Umgekehrt zeigt der im Untersuchungsgebiet von Erlangen und bei Neumarkt (Oberpfalz) vorkommende *Uloborus walckenaerius* auch bei dichter Besiedlung keine Ausbreitung aus dem engbegrenzten Biotop. Dabei ist auf den von ihm bewohnten Heideflächen meist sehr bald eine relativ große Bevölkerungsdichte erreicht.

Uloborus spannt sein ziemlich großes Radnetz horizontal bevorzugt zwischen den Trieben von *Calluna* aus. Häufig finden sich 2—4 Individuen an einer einzigen *Calluna*-Staude. Eine Mehrbesiedlung ist aus Mangel an Anbringungsmöglichkeiten des Netzrahmens kaum möglich. Trotz solcher stellenweise sehr dichten Besiedlung erfolgt nach meiner mehrjährigen und weiträumigen Beobachtung keine Ausstrahlung in weniger günstiges Gebiet, beispielsweise in Randgebiete, wo *Calluna* in lockerem Föhrenjungwuchs wächst. *Uloborus* ist eine mediterrane Art, die in Deutschland nur in den sehr warmen Heidegebieten um Nürnberg und Erlangen (vgl. WIEHLE 1953, S. 115) und bei Neumarkt (TRETZEL 1952, S. 51) eine inselartige Verbreitung gefunden hat. (Einbürgerungsversuche dieser Art in Heidegebieten des sehr warmen Rombergs bei Lohr am Main, die von Dr. STADLER durchgeführt wurden, scheinen zunächst geglückt zu sein.) Hier besiedelt er lockere *Calluna*-Horste, die auf freiem Sandboden stehen und sucht offensichtlich die Wärmewirkung reinen Sandes bei ungehinderter Sonnenbestrahlung. Rohhumusschichten, die den Sand decken und die der Wärmestrahlung gegenüber isolierend wirken, weicht er aus. In den letzten Jahren konnte ich feststellen, daß *Uloborus* aus Hauptbesiedlungsgebieten um Erlangen völlig verschwunden ist, nachdem diese gepflügt und mit Forstkulturen besetzt oder teilweise in Baugelände umgewandelt worden waren. Er verschwand, obwohl am Rande dieser Gebiete noch *Calluna* verblieben war, die aber im obigen Sinne seinen hohen Ansprüchen nicht mehr genügte.

Vermutlich liegt das Mikroklima der Besiedlungsgebiete von *Uloborus* gerade bezüglich Wärme weit unter dem Optimum, woraus sich

seine ausgesprochene Stenökie erklärt. *Uloborus* und *Mangora* leben auf manchen Heideflächen dicht nebeneinander. Ersterer erscheint nach Maßgabe seiner Ausbreitung im Untersuchungsgebiet stenovalent, letztere euryvalent. Es wäre aber durchaus möglich, daß die absolute Reaktionsbreite beider Arten gegenüber Temperatur ziemlich gleich wäre, nur liegen die Temperaturpräferenda verschieden hoch.

b) Die vertikale räumliche Sonderung.

Außer der in verschiedenen Graden ausgeprägten horizontalen räumlichen Sonderung haben es die Spinnen verstanden, auch alle Möglichkeiten einer vertikalen Sonderung zu nutzen: sie besiedeln verschiedene Strata und sind über Boden, Krautschicht, Gebüsch und Bäume bis hinauf zur Wipfelregion, auf die sich einzelne Arten sogar spezialisiert zu haben scheinen (z. B. *Aranea nordmanni*, wie DAHL vermutet) verteilt. Dabei zeigt die Mehrzahl der Arten gegenüber den von ihnen erwählten Strata eine ziemlich große Treue (Fidelitas). Diese Treue¹ beträgt nach den Untersuchungen von BALOGH (1938) im Mittel 83% (unter Steinen), 41% (Boden), 70% (Untergewächs), 64% (Gebüsch) und 90% (Bäume). Auch die Feststellung, wie vereinzelt Bewohner höherer Strata in die Bodenfallen geraten, zeugt davon (vgl. TRETZEL 1954, S. 639). Allgemein ist festzustellen, daß die terrestrischen Arten weit seltener in höhere Strata ausstrahlen und umgekehrt die Bewohner höherer Strata sich auf den Boden begeben, als sich die Bewohner höherer Strata (ab Krautschicht) innerhalb dieser bewegen. Zwischen Boden und den höheren Schichten scheint also eine ziemlich scharfe Grenze gezogen zu sein, die sich wohl in erster Linie aus mikroklimatischen Bedürfnissen erklärt. Auch TISCHLER (1948) stellte eine Zusammengehörigkeit von Streu- und Bodenschicht einerseits und von Kraut- und Strauchschicht andererseits fest. Diese Grenze geht aber aus BALOGHs Berechnungen nicht hervor und es ist nicht verwunderlich, wenn der Treuwert der Bodenassoziation bei seiner Untersuchung so niedrig bleibt; denn unter 173 Spinnenarten, die dieser Autor am Sashegi gefunden hat, sind die Micryphantiden nur mit 10, die Linyphiiden mit 6 Arten vertreten. Da die meist bodenbewohnenden Micryphantiden in der gemäßigten Zone in der Regel wenigstens ein Viertel der Arachnofauna ausmachen, läßt sich abschätzen, wieviele Arten der Boden- und Steinbiotope unberücksichtigt geblieben sind.

Mit der Frage, warum die Spinnen verschiedene Strata besiedeln, hat sich meines Wissens noch niemand eingehender beschäftigt. PALM-

¹ Fidelitas nach BALOGH (nicht HEROLD). Während HEROLD die Fidelitas nach den Fundorten berechnet, geht BALOGH von den Individuen aus. Nach seiner Definition (1938, S. 469) bedeutet diese Fidelitas, „wieviel Prozente der in allen Bevölkerungen gefundenen Individuenzahl einer Art auf diejenige Bevölkerung entfallen, die in dieser Hinsicht untersucht wird“.

GREN (1939) prüfte im Rahmen ökologischer und physiologischer Untersuchungen an *Dolomedes fimbriatus* die Geotaxis dieser Tiere und kam zu dem Ergebnis: „Die Spinne ist stark negativ geotaktisch, was ihren Aufenthalt in den höchsten Bodenvegetationsschichten, aber nicht ihr Fehlen auf den Bäumen erklärt.“ Der Grund dafür dürfte darin zu sehen sein, daß diese große Spinne als ungewandte Kletterin ihren Nahrungsbedarf auf Bäumen schwer decken kann und sich daher den Individuen ein selektiver Vorteil geboten hat, die in der Krautschicht geblieben sind. Ich habe schon 1952, S. 125, kurz darauf hingewiesen, daß ein augenfälliger Zusammenhang zwischen Körpergröße und damit Nahrungsbedarf einer Spinnenart und Höhe des besetzten Stratum im Sinne eines direkt proportionalen Verhältnisses besteht. Im großen gesehen leben die kleinen Formen bodennah, die großen in höheren Strata. Doch gibt es ganze Spinnenfamilien, die davon eine Ausnahme machen und diese Ausnahmen zeigen, daß die Aufenthaltshöhe nicht allein durch die Körpergröße und den Nahrungsbedarf einer Art, sondern auch durch die Beweglichkeit und die damit in Zusammenhang stehende Fangweise bestimmt wird. Die kleinen Bodenformen fangen ohne oder mit unscheinbarem Netz von nur geringer Fangwirkung. Die größeren, aufsteigenden Arten bedienen sich mehr oder minder wirkungsvoller Netze, die ihre höchste Entwicklungsstufe bei Araneiden, Tetragnathiden und Uloboriden erlangt haben. Es dürfte kein Zweifel bestehen, daß das von größeren Spinnen benötigte Beutegewicht an Fluginsekten mit vertikal ausgebreiteten Fangnetzen in höheren Strata leichter erreicht wird als auf dem Boden. Soweit größere Arten auf dem Boden bleiben (Lycosiden, Gnaphosiden, Dysderiden), sind sie gewandte Jäger (Laufspinnen), die großen Aktionsradius entwickeln und dadurch ihren Nahrungsbedarf leichter decken können. Und soweit große Arten in höheren Strata ohne Netz fangen (Philodromiden, Xysticiden zum Teil, Clubioniden zum Teil), sind sie gewandte Kletterer an Baumstämmen und Ästen. Die sehr beweglichen Salticiden sind über alle Strata verteilt, doch bleiben die kleinen Formen unter ihnen (*Neon*, *Euophrys*) bodennah. Auch die kleinen Arten unter den Araneiden leben in der Regel auf oder dicht über dem Boden (die Gattungen *Cercidia*, *Mangora*, *Singa*). Manche Arten halten sich im juvenilen Zustand auf dem Boden auf, als adulte Tiere aber höher. Als weiterer, die Aufenthaltshöhe bestimmender Faktor kommt die Art der Beute in Betracht. Leider sind wir darüber noch ungenügend unterrichtet und wissen gerade über die Nahrung der kleinen terrestrischen Formen nur wenig. Hier würde sich dem Araneologen noch ein weites Untersuchungsfeld eröffnen, das auch vom wirtschaftlichen Standpunkt sehr interessant wäre. Im allgemeinen ist die Beute als sehr verschiedenartig bekannt. Nur einzelne Arten sind bis jetzt als *Nahrungsspezialisten* be-

kannt [z. B. *Zodarion germanicum*, *Diplocephalus tristis* und *Theridium saxatile*: Ameisen; die *Ero*-Arten: *Spinnenfresser* (WIEHLE 1953, S. 61); *Eresus niger*: Käfer (WIEHLE 1953, S. 74); *Dysdera*: hauptsächlich *Asseln* (BRISTOWE 1941, S. 329)]. BRISTOWE (1941, S. 262—330) gibt einen umfangreichen, auf Fütterungsversuche gestützten Überblick über die Tiergruppen, die als Beute für Spinnen in Betracht kommen. Da diese wertvolle Zusammenstellung aber mehr darüber Auskunft gibt, was die Spinnen überhaupt fressen, als darüber, was sie bevorzugt zu sich nehmen, läßt sich aus ihr nicht ableiten, inwieweit die Suche nach bestimmter Nahrung die Biotop- und Stratawahl beeinflußt. Auch ist es zweifelhaft, ob die Nahrungsaufnahme in Gefangenschaft der Nahrungsauswahl in freier Natur entspricht. Es ist verständlich, daß die netzbauenden Spinnen höherer Strata im allgemeinen auf den Fang von Fluginsekten eingestellt sind, und es ist erwiesen, daß kleine und große Bodenbewohner auch oder sogar hauptsächlich mit anderen Insekten vorlieb nehmen müssen. So ist es beispielsweise erstaunlich, daß *Uloborus walckenaerius* nach meinen Beobachtungen häufig Käfer, vor allem Elateriden, fängt. Dieser zarten Spinne, die nicht einmal über Giftdrüsen verfügt, würden vermutlich weichhäutige Fluginsekten besser entsprechen als hartgepanzerte Käfer.

Wie aber oben schon erwähnt, ist *Uloborus* eine wärmeliebende Spinne, die trotz der Anlage eines großen Radnetzes, mit dem sie in höherem Stratum wahrscheinlich wesentlich mehr Fluginsekten erbeuten könnte, zur besseren Ausnutzung der Wärmestrahlung reinen Sandes bodennah bleibt. Die Fläche ihres Netzes ist horizontal gelegt, vielleicht wegen der damit erleichterten Anheftungsmöglichkeit an *Calluna*-Stauden oder auch aus Gründen der Wärmeausnutzung, da die Tiere meist ausgestreckt an der Unterseite der Nabe hängen. Da in dieser Höhe und mit dieser Netzlage ihr Nahrungsbedarf mit Fluginsekten nicht so leicht gedeckt werden kann, ist sie auch auf Käfer und andere Insekten angewiesen, die sie durch Umwicklung mit Spinnenfäden bewegungsunfähig macht und dann geschickt durch die Intersegmentalhäute aussaugt.

Entsprechend dieser Beobachtung dürfte sich bei genauem Studium der Beute ergeben, daß manche Arten oder Gattungen durch die Notwendigkeit einer räumlichen Sonderung in horizontaler und vertikaler Richtung zum Fang von Beutetieren gezwungen sind, die für die Mundwerkzeuge weniger gut geeignet erscheinen. Dieser Zwang wie überhaupt die Verteilung der Spinnen über verschiedene Strata und die damit Hand in Hand gehende Fangweise ist letzten Endes zweifellos eine Folgeerscheinung der Konkurrenz. Und dabei ist es bezeichnend, daß gerade die kleinen, schwachen Formen zu Restnutzern der niedersten Stratozöosen werden. Auch BRISTOWE scheint in der Besetzung verschiedener Strata eine Folgeerscheinung der interspezifischen Konkurrenz zu erblicken, wie aus folgenden Sätzen hervorgeht (1939, S. 107): „Competition between spiders is lessened by the selection of different parts of the plant on which to live and catch their prey. Different

species are more or less restricted to the bole of trees, the roots of herbage, the trunks of trees, crevices in the bark, the stems of herbs, the brachnes or twigs, the leaves or flowers“. Diese vertikale Sonderung kann (wenigstens ursprünglich) als eine Art „Annidation“ (LUDWIG 1950) aufgefaßt werden: als „neuartige (= zusätzliche) Ausnutzung eines gemeinsamen Lebensraumes“.

Wie wir uns diese Ausnutzung der verschiedenen Höenschichten phylogenetisch im großen vorzustellen haben, so zeigt sie sich auch im kleinen: günstig gelegene Bestandsfronten oder Hecken sind mitunter mit Radnetzen von *Aranea diadema* oder *Aranea dumetorum* geradezu übersät. Je dichter nun lokal die Besiedlung ist und je enger die Netze beieinanderliegen, desto auffallender ist die vertikale Abdrängung einzelner Individuen nach oben und nach unten. Mitunter sind dann Netze zu finden, die dem Boden direkt aufsitzen. Eine ähnliche Ausbreitung durch intraspezifische Konkurrenz, wie sie oben in der Horizontalen geschildert wurde, ist also auch in der Vertikalen zu beobachten.

Sicher waren die Araneiden und deren Ursprungsformen nicht von Anfang an schwerfällig und sessil, doch ist anzunehmen, daß der Ausnutzung des Spinnvermögens, das ja auch vagante Formen besitzen und wenigstens zur Anfertigung von Spermanetzen oder Eipaketen verwenden, zur Herstellung von Fangnetzen eine morphologische Abwandlung vorausgegangen ist, die denjenigen Tieren einen selektiven Vorteil bot, die ihr Spinnvermögen in den Dienst des Nahrungserwerbs stellten. Je weiter die morphologische Entwicklung vom Typ der schnell beweglichen Jagdspinne wegführte, desto mehr mußte die Leistungsfähigkeit der Netze gesteigert werden. Die Entwicklung von regellos gelegten „Stolperfäden“ über das „Drahtverhau“ der Cribellaten bis zum vollendeten Radnetz läßt sich noch heute an Hand der verschiedenen Netztypen wenigstens ungefähr ablesen (vgl. die „phylogenetischen Betrachtungen“ bei WIEHLE 1929, 1931 und PETERS 1939).

Da es meine Untersuchungen nicht gestatten, näher auf die Erscheinungen der vertikalen Sonderung einzugehen, würde eine weitere Erörterung dieser Probleme vom eigentlichen Thema wegführen. Doch wäre es sicher ebenso interessant wie lohnend, nach gründlichem Studium der von den verschiedenen Spinnengruppen bevorzugten Nahrung die hier angedeuteten Beziehungen zwischen Nahrungsbedarf, Nahrungsart, Fangweise und Aufenthaltshöhe weiter zu verfolgen.

In Anbetracht des reichen Nahrungsangebotes, das den im allgemeinen nicht nahrungsspezialisierten Spinnen im Freiland zur Verfügung steht, möchte ich dem *Einfluß der Nahrung auf die Biotopwahl* nur sekundäre Bedeutung beimessen und annehmen, daß eine Art nicht deshalb in bestimmten Biotopen vorkommt, weil sie dort die gesuchte

Nahrung findet, sondern weil die Standortverhältnisse dieser Biotope ihrem ökologischen Charakter entsprechen. Diese primäre ökologische Bindung kann sie dann sogar dazu zwingen, mit einer ursprünglich weniger adäquaten Nahrung vorlieb zu nehmen. Erst in nahrungs-armen Sonderbiotopen (Höhlen) dürfte die Verteilung der Spinnen sehr wesentlich durch das Nahrungsangebot bestimmt werden (z. B. *Meta menardi*, s. TRETZEL 1952, S. 126).

Diese vertikale Sonderung fasse ich als eine sekundäre auf, die nach der horizontalen erfolgt ist. Dafür spricht, daß manche Arten sich gleichmäßig über verschiedene Strata bewegen. Davon zeugt aber insbesondere die Feststellung, daß diejenigen Artenpaare, die weder zeitliche noch nennenswerte räumliche Sonderung zeigen, zwar bevorzugt terrestrisch leben, aber auch in großer Zahl die Krautschicht besteigen. Dadurch haben sie nicht nur größere Ausweichmöglichkeiten, sondern auch eine Erleichterung in der Deckung ihres Nahrungsbedarfs (vgl. S. 120).

2. Die zeitliche Sonderung.

Die zeitliche Sonderung tritt gegenüber der räumlichen nur wenig zurück und scheint bei Spinnen in wesentlich größerem Umfange durchgeführt zu sein als bei anderen Tiergruppen. Unter zeitlicher Sonderung soll hier nur die *jahreszeitliche Sonderung* verstanden werden. Diese äußert sich darin, daß die Fortpflanzungszeit zweier Arten (oder wenigstens deren Höhepunkt) um ein bis mehrere Monate auseinanderliegt.

Neben dieser jahreszeitlichen ist bei Spinnen aber auch noch eine *tageszeitliche* Sonderung ausgeprägt. Ein Teil der Spinnen ist bei Tage aktiv und geht dem Beutefang nach, der andere Teil lebt bei Tage unter Steinen und Baumrinde oder in zusammengespinnenen Pflanzenteilen versteckt und zieht erst nachts auf Raub aus. In dieser tageszeitlichen Sonderung kann ein zusätzliches Ausweichen oder, besser gesagt, eine abwechselnde Nutzung des Jagdgebietes erblickt werden, deren Bedeutung für die Aufteilung und Ausnützung des vorhandenen Lebensraumes und seiner Nahrungsquellen nicht unterschätzt werden darf. So fangen beispielsweise unter den großen, vaganten Formen der Bodenassoziation die Lycosiden im allgemeinen bei Tage, die Gnaphosiden, Dysderiden und Clubioniden bei Nacht. Würden sie innerhalb dieser Stratozönose alle gleichzeitig fangen, so wäre die gegenseitige Störung wesentlich vermehrt. Diesen Gedanken hat schon BRISTOWE (1941, S. 229) treffend ausgesprochen: „Different species have adapted themselves to different habitats and within each habitat there are spiders to attack large insects and others to capture smaller kinds, spiders to attack diurnal insects and others which hunt by night,

spiders which are a danger to crawling insects and others which specialize on those which fly. Modified structure and modified instincts combine to make the greatest use of the available food supply."

Leider sind wir über die *tageszeitliche Rhythmik* gerade der Nachträuber ebenso ungenügend unterrichtet wie über die Art ihrer Beute. Fallenfänge mit entsprechend kurz aufeinanderfolgenden Kontrollen oder einer Fangautomatik könnten in diesem Punkte wertvolle Aufklärung bringen und vielleicht sogar feststellen lassen, daß nächstverwandte Arten in ihrer Aktivität auch eine tageszeitliche Sonderung durchgeführt haben. Diese Vermutung gründet sich auf die bekannte Beobachtung, daß schon die netzbauenden Formen eine noch nicht vergleichend betrachtete tageszeitliche Periodizität ihrer Spinn Tätigkeit zeigen. So findet beispielsweise die Netzerneuerung von *Aranea bituberculata*, *Aranea reaumurii* und *Meta reticulata* in den Morgenstunden statt; *Aranea foliata* und *dumetorum* besorgen diese gegen Abend, *Aranea undata* und *searpunctata* erst nach Einbruch der Dunkelheit. WIEHLE (1931, S. 74) bemerkt auch, daß *Aranea diadema* zwei Tageszeiten für die Begattung bevorzugt: den Vormittag bei sonnigem Wetter und den Abend nach Einbruch der Dunkelheit.

Die verschiedenen *Möglichkeiten einer jahreszeitlichen Sonderung* (diese der Kürze wegen im folgenden nur zeitliche genannt) ergeben sich aus den Lagemöglichkeiten der Fortpflanzungszeit bei den einzelnen Arten. Darüber unterrichtet meine Arbeit 1954. Der größte Teil der Spinnen unserer Breite pflanzt sich im Mai fort, bei den übrigen Arten ist die Kopulationszeit in abnehmender Häufigkeit über die Monate März bis November verteilt, in Einzelfällen (2—3 % aller Arten) sogar in die Wintermonate Dezember bis Februar gelegt. Eine Verlagerung der Kopulationszeit in die kalte Jahreszeit ist aber nur terrestrischen Arten möglich, die in der Streudecke leichter Witterungsschutz und Nahrung finden. Ähnlich der räumlichen Sonderung kann auch die zeitliche verschieden breit und vollkommen durchgeführt sein. Bei vollständiger zeitlicher Sonderung zwischen 2 Arten beginnt die Fortpflanzungsperiode der einen Art nicht vor Ende der Fortpflanzungsperiode der anderen. Derartige vollständige Sonderungen zwischen Gattungsvertretern lassen sich unter Umständen als Isolationsmechanismen verstehen, die zur Artbildung geführt haben. Die Mehrzahl der festgestellten Sonderungsfälle aber ist nur soweit durchgeführt, daß innerhalb einer eurychronen Reifeperiode zweier Arten mit gleichen Grenzen die Höhepunkte der Kopulationszeit beider Arten um 1 bis 2 Monate differieren. War es früher im allgemeinen nur möglich, die Grenzen einer eurychronen, mitunter nahezu über das ganze Jahr dauernden Reifeperiode zu bestimmen, so gelang die Feststellung der eigentlichen Fortpflanzungszeit bzw. ihres Höhepunktes erst mit Hilfe

der Fallenfangstatistik. Diese genaue Kenntnis der Fortpflanzungszeit bildete natürlich die Voraussetzung für die Feststellung einer zeitlichen Sonderung der Arten. Beträgt nun diese Sonderung zwischen 2 Arten nur 1 Monat, so liegt der Gedanke nahe, daß sich diese Differenz aus den Fängen in verschiedenen warmen Jahren erklärt. Wie vom Verfasser (1954, S. 671) festgestellt worden ist, kann sich der Beginn der Fortpflanzungsperiode durch klimatische Einflüsse in manchen Jahren um etwa einen halben Monat verschieben, wobei bei Rechnung mit ganzen Monaten sogar die doppelte Zeit vorgetäuscht werden kann. Da die Arten aber zumeist in den gleichen Jahren gefangen wurden, müßte sich eine klimatisch bedingte Streuung auch bei der Schwesterart bemerkbar machen und die Differenz der Fortpflanzungsspitzen verwischen.

Die zeitliche Sonderung betrifft natürlich nur die adulten Tiere oder — bei langdauernder Reifezeit — sogar nur die Fortpflanzungsperiode. Diese aber ist die Zeit gesteigerter Aktivität. Sie liegt, wie der Fallenbelauf beweist, bei Männchen zur Zeit der Weibchensuche, bei Weibchen hauptsächlich zur Zeit der Eireifung. Der Zweck dieser Sonderung besteht also darin, die Zeiten größter Aktivität und gesteigerten Nahrungsbedarfs bei bestimmten Arten zu trennen. Raum- und Nahrungskonkurrenz waren wohl in erster Linie Anlaß zu dieser Sonderung. Dabei zeigt sie sich zwischen Gattungsvertretern am deutlichsten und so ausgeprägt, daß anzunehmen ist, es spielen hier auch gewisse psychologische Momente eine Rolle. Aber auch Arten verschiedener Gattungen oder Familien haben nicht selten ihre Kopulationszeit gerade in eine zeitliche Lücke gelegt, die zwischen der Fortpflanzungszeit anderer Arten ihres Biotops und Stratoms geblieben ist (Beispiele dafür werden unten noch gegeben). Die Wirksamkeit der zeitlichen Sonderung, die bessere Raum- und Nahrungsnutzung, wird innerhalb eines Standortes noch dadurch erhöht, daß die Arten über verschiedene Strata verteilt sind. Aber schon innerhalb des bestuntersuchten terrestrischen Stratoms offenbart sich der Vorteil der zeitlichen Sonderung in der *Aspektfolge*, die an zwei beliebig herausgegriffenen Beispielen gezeigt sei:

1. *Biotop*. Randzone eines lichten, 8jährigen Föhrenjungwuchses mit eingestreuten Fichten und Birken. Hohe, zusammenhängende *Calluna*. Bodenbedeckung: Hypneen, starke Nadelschüttung. Boden: reiner, feinkörniger Sand mit Rohhumusauflage.

Gesamtfangziffer: 754 adulte Individuen; 46 Arten aus 36 Gattungen.

Jahresassoziation:

<i>Centromerus silvaticus</i> 30,8% Abundanz	<i>Gongyliidiellum latebricolum</i> 3,6%
<i>Macrargus rufus</i> 9,5%	<i>Coelotes atropos</i> 2,7%
<i>Agroeca brunnea</i> 9,5%	<i>Aulonia albimana</i> 2,7%
<i>Walckenaera cucullata</i> 9,5%	<i>Agroeca proxima</i> 2,0%
<i>Trochosa terricola</i> 4,7%	<i>Pachygnatha listeri</i> 1,9%

Lepthyphantes mansuetus 1,5%
Robertus lividus 1,3%
Walckenaera obtusa 1,2%
Leptorrhoptum conigerum 1,1%
Pocadicnemis pumila 1,1%
Phrurolithus festivus 1,1%
Linyphia clathrata 1,0%
Walckenaera acuminata 1,0%
 (unter 1% weitere 28 Arten)

Frühjahrsaspekt (März-Mai):

Macrargus rufus 36,6% Abundanz
Walckenaera cucullata 20,3%
Agroeca brunnea 11,4%
Trochosa terricola 9,3%
Centromerus silvaticus 4,1%
Pachygnatha listeri 3,1%
Lepthyphantes mansuetus 3,1%
Walckenaera obtusa 2,1%
Agroeca proxima 1,4%
Leptorrhoptum conigerum 1,0%
 (restliche Arten unter 1%)

Sommeraspekt (Juni-August):

Gongylidiellum latebricolum 16,0%
Aulonia albimana 13,3%
Agroeca brunnea 12,7%
Phrurolithus festivus 5,3%
Pocadicnemis pumila 4,7%
Linyphia clathrata 4,7%
Robertus lividus 4,0%

2. Biotop. Geschlossener Laubholzbestand (Esche, Erle) in Westhanglage, wenig Unterwuchs. Dünne Laubstreudecke mit spärlichen Moosen. Humusreicher, feuchter, stellenweise sumpfiger Boden.

Gesamtfangziffer: 336 adulte Individuen; 37 Arten aus 27 Gattungen.

Jahresassoziation:

Coelotes inermis 14,6% Abundanz
Centromerus silvaticus 13,7%
Lepthyphantes cristatus 10,7%
Trochosa terricola 7,5%
Agroeca brunnea 6,9%
Bathypantes concolor 6,6%
Pachygnatha listeri 6,0%
Bathypantes nigrinus 4,2%
Robertus lividus 3,6%
Erigonella latifrons 3,6%
Ceratinella brevis 3,6%
Micrargus herbigradus 2,7%
Walckenaera obtusa 1,7%
Coelotes atropos 1,5%
Dicymbium tibiale 1,5%

Trochosa terricola 4,0%
Pachygnatha listeri 3,3%
Leptorrhoptum conigerum 3,3%
Centromerus silvaticus 2,7%
Coelotes atropos 2,7%
Agroeca proxima 2,0%
 (restliche Arten unter 1%)

Herbstaspekt (September-November):

Centromerus silvaticus 61,5%
Agroeca brunnea 8,5%
Coelotes atropos 7,5%
Walckenaera cucullata 5,0%
Agroeca proxima 4,0%
Macrargus rufus 3,5%
Robertus lividus 2,0%
Gongylidiellum latebricolum 1,5%
Trochosa terricola 1,0%
Cicurina cicur 1,0%
 (restliche Arten unter 1%)

Winteraspekt (Dezember-Februar):

Centromerus silvaticus 70,8%
Macrargus rufus 13,9%
Walckenaera acuminata 3,1%
Agroeca brunnea 1,5%
Lepthyphantes mansuetus 1,5%
Walckenaera obtusa 1,5%
Gonatium rubens 1,5%
 (restliche Arten unter 1%)

Walckenaera acuminata 1,5%
Oxyptila brevipes 1,2%
Cicurina cicur 1,2%
 (unter 1% weitere 18 Arten)

Frühjahrsaspekt:

Coelotes inermis 16,3% Abundanz
Lepthyphantes cristatus 14,8%
Trochosa terricola 12,2%
Agroeca brunnea 11,2%
Pachygnatha listeri 9,2%
Bathypantes nigrinus 5,1%
Ceratinella brevis 5,1%
Centromerus silvaticus 4,1%
Bathypantes concolor 4,1%
Erigonella latifrons 4,1%

Walckenaera obtusa 2,6%
Walckenaera acuminata 2,0%
Dicymbium tibiale 1,5%
 (restliche Arten unter 1,5%)

Sommeraspekt:

Bathypantes concolor 18,7%
Robertus lividus 14,1%
Oxyptila brevipes 6,3%
Erigonella latifrons 4,7%
Aulonia albimana 4,7%
Pachygnatha listeri 3,1%
Bathypantes nigrinus 3,1%
Dicymbium tibiale 3,1%
Lepthyphantes flavipes 3,1%
 (restliche Arten unter 1,5%)

Herbstaspekt:

Centromerus silvaticus 38,8%
Coelotes inermis 18,4%
Coelotes atropos 8,2%
Lepthyphantes cristatus 4,7%
Bathypantes concolor 4,7%
Robertus lividus 4,7%
Ceratinella brevis 4,7%
Cicurina cicur 4,7%
 (restliche Arten unter 1,5%)

Winteraspekt:

Centromerus silvaticus 70,4%
Lepthyphantes cristatus 14,8%
 (restliche Arten unter 2%)

Diese Beispiele lassen zwar die speziellen Erscheinungen einer zeitlichen Sonderung nicht klar zutage treten, da hier zur Wahrung des quantitativen Gleichgewichts Männchen und Weibchen zusammengerechnet wurden und nur das Erscheinen der Männchen auf die Kopulationszeit hinweist, doch zeigt die jahreszeitliche Verschiebung in der quantitativen Reihenfolge der Assoziationselemente allgemein die Tendenz zu einer zeitlichen Verteilung der Arten zum Zwecke einer gleichmäßigeren Ausnützung der Stratozönose.

Bei der Ausbildung der verschiedenen Reife- bzw. Kopulationszeiten haben klimatische Einflüsse und Artkonkurrenz zusammengewirkt. Ersteren dürfte vorwiegend primäre, letzterer sekundäre Bedeutung zugekommen sein. Eine Hypothese von der Entwicklung der verschiedenen Reifezeiten habe ich 1954 (S. 677—683) gegeben. Klimatische Veränderungen zwangen die meisten Arten zu einer Verkürzung einer ursprünglich mehr oder minder über das ganze Jahr greifenden Fortpflanzungstätigkeit. Bei terrestrischen Arten konnte sich bis heute eine Reifezeit mit breiter Basis erhalten, bei den Bewohnern höherer Strata aber, die den Witterungseinflüssen stärker preisgegeben sind, erfolgte eine weitere Verkürzung der Fortpflanzungs- und Reifezeit bis zum Stenochronismus. Für eine sekundäre Verlagerung des Höhepunktes der Kopulationszeit ist die interspezifische Konkurrenz verantwortlich zu machen. Dafür spricht schon allein die Tatsache, daß die überwiegende Mehrzahl der Spinnen ihre Fortpflanzungsperiode im Mai hat. Dieser Monat ist also die in unseren Breiten für Spinnen offenbar günstigste Jahreszeit. Trotzdem kennen wir zahlreiche Beispiele einer weiten Verlegung der Fortpflanzung in eine primär weniger günstige Jahreszeit, in Einzelfällen sogar bis in den Winter hinein.

Eine vollständige zeitliche Sonderung kann eine Speziation durch zeitliche Isolation zur Folge haben. Zeitliche Sonderung und biologische Isolation sind nicht scharf zu trennen. RENSCH (1933, S. 40) hält

es in Anbetracht der gewöhnlich länger andauernden Paarungszeit bei Tieren für „kaum denkbar“, daß eine Verschiebung der Fortpflanzungszeit bei einzelnen Varianten nicht stets wieder durch Panmixie verwischt wird, falls nicht gleichzeitig eine geographische und ökologische Trennung einsetzt. Die Ansicht, daß eine verschiedene Fortpflanzungszeit nur im Verein mit geographischer Isolation zur Artbildung beitragen kann, äußerte RENSCH auch 1954 (S. 54). MAYR (1949, S. 251) hingegen scheint der jahreszeitlichen Isolation eine größere Bedeutung beizumessen („A much more effective method of ecological isolation than by habitat speciation is given by the development of different breeding seasons“).

Dem Einwand, daß bei der Ausbildung einer jahreszeitlichen Isolation eine Speziation durch Panmixie verhindert werden würde, ist folgendes entgegenzuhalten: Wenn sich eine Spinnenart (entsprechend der Abb. 2 und Erklärung S. 74) in eine Frühjahrs- und Herbstpopulation differenziert, so ist den Frühjahrmännchen wegen der Kurzlebigkeit der Spinnenmännchen allgemein keine Möglichkeit gegeben, mit später reifenden Weibchen zusammenzutreffen. Die langlebigen Weibchen aber, die sich von Frühjahr bis Herbst am Leben halten können, werden nach einer Begattung keine Paarungsbereitschaft mehr zeigen und dadurch den Isolationsprozeß begünstigen.

3. Theoretische Möglichkeiten einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation.

Es erübrigt sich, die verschiedenen Möglichkeiten einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation gesondert zu besprechen, da sie ineinander übergehen und nur unwesentliche Abwandlungen zweier Grundtypen darstellen. Es seien daher nur die beiden wichtigsten Wege einer Speziation durch zeitliche Isolation vor Augen geführt.

a) *Zeitliche Isolation und Artbildung durch interspezifische Konkurrenz.* Eine Art A, deren Population und jahreszeitliches Auftreten in Abb. 2 im Sinne einer phänologischen Kurve dargestellt ist, habe bei einjähriger Entwicklung im Sommer (oder zu einer anderen Jahreszeit) ihre Fortpflanzungsperiode, die in diesem Falle ziemlich stenochron angenommen wird. Diese Art gerät in heftige Konkurrenz mit einer zweiten Art C, die isotop und isochron ist. Art C kann aus irgendwelchen Gründen biologisch stärker sein als A. Sie könnte nach Veränderung der klimatischen oder standörtlichen Verhältnisse in weiten Teilen des Gebietes ein Optimum finden, während A unter dem Optimum leben muß; sie könnte auch später in das von A besiedelte Gebiet eingewandert sein und sich dort unter günstigen Lebensbedingungen rasch vermehren. An den Rändern der Fortpflanzungsperiode von A nun, die sich unter Umständen sogar einem klimatischen Pessimum nähern können, bietet

die schwächere Konkurrenz einen selektiven Vorteil. Alle gegen Anfang und Ende der normalen Fortpflanzungszeit zur Kopulation schreitenden Individuen finden mehr Nahrung, werden weniger gestört und gefährdet. Chronologische Adaptation über den Weg der Selektion bildet die Rassen *a* und *b* heraus, die sich nach neuem, endogenen Rhythmus nun jeweils im Frühjahr bzw. Herbst fortpflanzen. Durch fortschreitende zeitliche Isolation entstehen schließlich die Arten *a* und *b*, während die Mittelpopulation von *A* der Konkurrenz zum Opfer fällt.

Statt einer interspezifischen Konkurrenz durch die Art *C* können auch *klimatische Veränderungen*, die inmitten der ursprünglichen Fort-

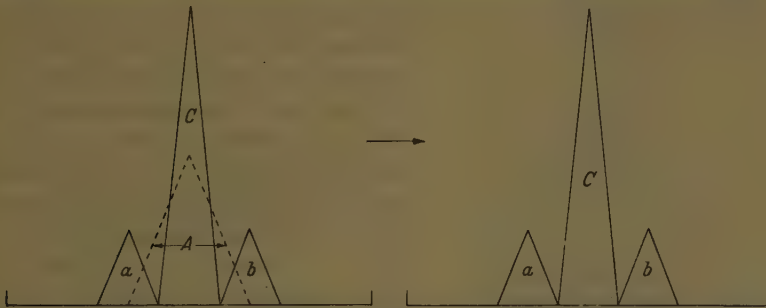


Abb. 2. Der Verlauf einer jahreszeitlichen Isolation durch interspezifische Konkurrenz zwischen den Arten *A* und *B*, wobei *A* in die biologischen Rassen *a* und *b* zerfällt. Das Schema ist im Sinne einer phänologischen Kurve dargestellt.

pflanzungsperiode ein Pessimum schaffen, zu einer Teilung der Kopulationszeit und biologischen Isolation Anlaß gegeben haben.

Die Annahme, daß Art *A* die biologisch schwächere sein müßte, die unter dem Konkurrenzdruck von *C* besonders zu leiden hat, ist für eine Erklärung dieses Vorganges durchaus nicht notwendig. Es könnten auch beide Arten gleich stark und konkurrenzfähig sein, doch konnte bei *A* eine solche Variation aus physiologischen oder genetischen Gründen eben schneller und leichter erfolgen.

Als Abwandlung dieses Modus könnte eine interspezifische Konkurrenz auch nur zu einer zeitlichen Sonderung nach einer Richtung Anlaß geben, dann nämlich, wenn in der anderen Richtung eine klimatische (z. B. Winter) oder physiologische Sperre (Mindestzeit für die Entwicklung zur Reife) liegt. In diesem Falle wäre eine Verschiebung der Kopulationszeit auch ganz ohne nachweisbare rassische Umbildung denkbar. Dieser Vorgang ist bei Spinnen, die zwischen nächstverwandten Arten oftmals nur eine geringe und unvollständige zeitliche Sonderung zeigen, wahrscheinlich der häufigste.

β) *Zeitliche Isolation und Artbildung durch intraspezifische Konkurrenz.* Eine stenochrone Art mit der Ausgangspopulation *A* finde im

Gebiet ein Optimum und habe bei einjähriger Entwicklungsdauer ihre Fortpflanzungsperiode in die von den meisten Spinnenarten bevorzugte warme Jahreszeit gelegt. Durch allmähliches Anwachsen der Populationsdichte wächst der Gipfel ihres jahreszeitlichen Auftretens (Abb. 3). Dabei werden auch die Grenzen der Fortpflanzungsperiode erweitert, die zeitliche Streuung in der Entwicklung zur Geschlechtsreife nimmt zu, da neben den auch unter normalen Umständen ausnahmsweise früher entwickelten Individuen die Reifehäutung eines Teiles der Population durch Übervölkerung, Störung und Nahrungsmangel verzögert wird.

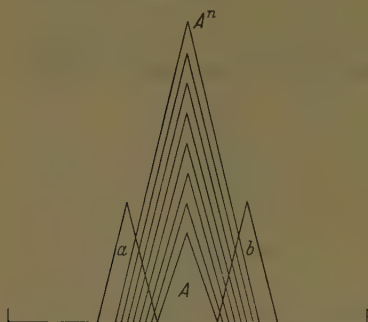


Abb. 3. Schematische Darstellung des Vorganges einer jahreszeitlichen Isolation durch intraspezifische Konkurrenz innerhalb der Art *A*, deren Populationsgröße bis A^n anwächst und die dann die Populationen *a* und *b* ausbildet.

Wie bei Beispiel *a* liegt auch hier an den Rändern der verbreiterten Fortpflanzungsperiode ein selektiver Vorteil, der die Speziation begünstigt. Die restliche Mittelpopulation mit der ursprünglichen Lage der Kopulationszeit aber könnte nach und nach neben der intraspezifischen Konkurrenz einer interspezifischen seitens aller übrigen Spinnen, die isochron sind, zum Opfer fallen. Vermutlich würde sich die intraspezifische Konkurrenz ohne gleichzeitige interspezifische nicht so stark auswirken und über kurz oder

lang einen Ausgleich des biologischen Gleichgewichtes erzielen. Aus diesem Grunde müssen wir auch annehmen, daß Fall *a* einer interspezifischen Konkurrenz weit häufiger und wirkungsvoller sein wird.

Bei genügender Breite der Fortpflanzungsperiode bzw. Reifezeit einer Art wäre es sogar denkbar, daß durch interspezifische, intraspezifische oder kombinierte Konkurrenz eine Aufspaltung in 3 Populationen und bei allmählicher zeitlicher Isolation die Herausbildung von 3 Rassen erfolgen könnte.

Dies sind vorerst rein theoretische Möglichkeiten. Ob eine jahreszeitliche Isolation praktisch zur Artbildung ausreicht, muß offengelassen werden. Jedoch ist die Wirksamkeit dieses Isolationsmechanismus, wie wir S. 131 noch sehen werden, wenigstens in einigen Fällen sehr wahrscheinlich.

III. Allgemeine Erscheinungen der Synökologie, die sich als Auswirkungen interspezifischer Konkurrenz erklären.

1. Die biozönotischen Grundgesetze.

Die Gültigkeit der biozönotischen Grundgesetze von THIENEMANN (1918 und 1920) erweist sich natürlich auch bei einer einzelnen Tiergruppe wie den Spinnen. „Je variabler die Lebensbedingungen einer

Lebensstätte, um so größer die Artenzahl...“, um so niedriger aber auch die Abundanz der einzelnen Assoziationselemente; je einförmiger und absonderlicher aber der Lebensraum ist, desto geringer ist die Zahl der auf ihn spezialisierten Arten, desto größer aber ihre Abundanz (wenigstens bei den führenden Assoziationselementen). Diese Gesetzmäßigkeit wies auch JACCARD (1902) für die alpine Flora nach (S. 79: „Loi de la richesse florale: La richesse florale d'une portion déterminée de la zone alpine est étroitement proportionnelle à la diversité de ses conditions oecologiques“). Diese Gesetzmäßigkeit zeigt die Gegenüberstellung der terrestrischen Assoziationen von 4 verschiedenartigen Biotopen.

a) Übergangsbiotop zwischen mäßig feuchter, lehmiger Süßwiese, Sphagnumtümpel, der mit Laubholz umstanden ist, und Föhrenbestand auf Sandboden. 57 Arten aus 41 Gattungen.

Cicurina cicur 13,2% Abundanz¹ der

Jahresassoziation

Agroeca brunnea 11,7%
Centromerus silvaticus 10,3%
Trochosa spinipalpis 6,7%
Ceratinella brevis 5,0%
Lycosa pullata 3,8%
Trochosa terricola 3,3%
Centromerus expertus 3,2%
Stemonyphantes lineatus 2,8%
Bathyphantes nigrinus 2,6%
Lepthyphantes mansuetus 2,4%
Oxyptila brevipes 2,1%
Walckenaera cucullata 2,1%
Hahnia pusilla 1,9%
Pachygnatha degeeri 1,8%
Pachygnatha clerckii 1,7%
Phrurolithus festinus 1,4%
Micronetaria viaria 1,4%
Lepthyphantes cristatus 1,3%
Bathyphantes gracilis 1,3%
Zora spinimana 1,1%
Tarentula cuneata 1,1%
Zelotes latreillei 1,1%
Walckenaera cuspidata 1,1%
Micrargus herbigradus 1,1%
Aulonia albimana 1,0%
Robertus lividus 1,0%
Walckenaera obtusa 1,0%
Walckenaera acuminata 1,0%
Macrargus rufus 1,0%

unter 1%:

Pocadicnemis pumila
Tarentula pulverulenta
Linyphia clathrata
Maso sundevalli
Lepthyphantes pallidus
Drapetisca socialis
Pachygnatha listeri
Zelotes petrensis
Gongylidiellum latebricolum
Pirata latitans
Bathyphantes concolor
Walckenaera antica
Dicymbium tibiale
Coelotes atropos
Centromerus bicolor
Erigonella latifrons
Antistea elegans
Cercidia prominens
Clubiona holosericea
Erigonella hiemalis
Arctosa leopardus
Euryopsis flavomaculata
Phlegra fasciata
Micaria pulicaria
Zodarium germanicum
Lepthyphantes tenebricola
Tapinocyba pallens

¹ Hier können nur Zahlen der relativen Häufigkeit, nicht absolute Fangziffern vergleichsweise gegenübergestellt werden, da die Fallen in diesen Biotopen verschieden lange und in verschiedener Anzahl gestanden haben und dadurch die Gesamtfangziffern nicht vergleichbar sind. Die Gesamtfangziffern liegen im Mittel um 350 adulte Individuen.

b) Biotop: *Laubholzbestand* (Buche, Esche) ohne Unterwuchs in Westhanglage. Ausgiebige, lockere Laubstreudecke. Boden lehmig mit mildem Humus. Bestandsinneres.

26 Arten aus 19 Gattungen.

Centromerus silvaticus 18,7%
Coelotes inermis 17,3%
Bathypantes concolor 17,0%
Erigonella latifrons 15,3%
Coelotes atropos 5,7%
Pachygnatha listeri 4,0%
Lepthyphantes cristatus 3,7%
Cybaeus angustiarum 3,0%
Micrargus herbigradus 2,7%
Lepthyphantes tenebricola 2,0%
Walckenaera mitrata 1,7%
Macrargus rufus 1,7%
Harpactes lepidus 1,3%
Micronetaria viaria 1,0%
Bathypantes nigrinus 1,0%
Robertus lividus 1,0%

unter 1%

Drapetisca socialis
Lepthyphantes pallidus
Walckenaera acuminata
Cicurina cicur
Gonatum isabellinum
Histopona torpida
Antistea elegans
Trochosa terricola
Walckenaera obtusa
Walckenaera monoceros

c) *Feuchte Süßwiese* im Überschwemmungsbereich der Regnitz.

13 Arten aus 8 Gattungen.

Erigone atra 46,4%
Stylothorax retusa 18,0%
Erigone dentipalpis 15,9%
Stylothorax agrestis 7,7%
Pachygnatha degeeri 3,0%
Hilaira uncata 2,2%
Trochosa spinipalpis 1,3%

Lycosa tarsalis 1,3%
Pirata latitans 1,3%
Pachygnatha clerckii 1,3%

unter 1%

Aracuncus humilis
Lycosa pullata
Lycosa fluviatilis

d) *Sandfläche*, mit einzelnen Jungföhren bestockt. Reiner, feinkörniger Sand, stellenweise mit schwacher Rohhumusauflage und dürrtiger *Cladonia*.

13 Arten aus 9 Gattungen.

Lycosa bifasciata 46,8%
Tarentula fabrilis 10,1%
Zelotes serotinus 8,8%
Xysticus sabulosus 8,8%
Zelotes electus 6,5%
Typhochraestus digitatus 5,2%
Aelurillus insignitus 3,7%

Tarentula aculeata 3,7%
Tapinocyba antepenultima 2,6%
Macrargus carpenteri 2,6%
Zelotes pusillus 1,3%
Xysticus cristatus 1,3%
Xerolycosa nemoralis 1,3%

Die Beziehungen zwischen Biotopart, Artenzahl und relativer Häufigkeit werden verdeutlicht, wenn wir jeweils die Abundanzwerte der 5 führenden Assoziationselemente addieren. Diese vorherrschenden Arten erreichen zusammen in dem variablen, artenreichen Biotop a nur 46,9%, in dem Durchschnittsbiotop b 74%, in den einförmigen, artenarmen Sonderbiotopen c und d aber 91 und 81% Abundanz der Gesamt- (= Jahres-) Assoziation. Die Besiedlungsmöglichkeit eines Standortes für viele oder nur wenige, speziell angepaßte Arten ergibt sich aus der Konstellation der abiotischen Faktoren. So stellt Biotop a

einen Übergangsbiotop (in der Definition von TISCHLER 1951, S. 144) dar, der keine sonderlich charakteristische Assoziation aufzuweisen hat, in dem sich aber zahlreiche Arten angrenzender Biotope treffen und so eine ausgesprochene Mischassoziation zusammenstellen. Im Gegensatz dazu beherbergen die einförmigen, absonderlich feuchten bzw. trockenen Biotope c und d nur wenige, aber meist charakteristische Arten. Die Einstrahlung von Arten aus Nachbarbiotopen ist hier gering. Durch die Lage eines Biotops (Angrenzung andersartiger Lebensräume) und durch eine bestimmte Konstellation der standörtlichen Verhältnisse, die der Ausbreitung und Abundanz der Stammarten in keiner Weise hinderlich ist, die aber auch anderen Arten ein Einrücken in diesen Lebensraum gestattet, wächst die Artenzahl auf Kosten der Artabundanz. Die Korrelation zwischen Artenzahl und Abundanz erklärt sich als eine Auswirkung der interspezifischen Konkurrenz, die die Besiedlung der Biotope nur bis zu einer gewissen „quantitativen Sättigung des biologischen Fassungsvermögens“ (TISCHLER 1954) zuläßt.

2. Die Abundanzstaffelung.

Bei den obigen Beispielen fällt auf, daß die Beziehungen zwischen Artenzahl und Abundanz nur bei den führenden Assoziationsmitgliedern deutlich erkennbar sind. Alle übrigen Arten treten quantitativ ausnehmend stark zurück. Es ist eine eigenartige Erscheinung der Synökologie bei Spinnen (und vermutlich auch bei anderen Tiergruppen), daß die Abundanzwerte der einzelnen Assoziationselemente in der Regel sehr schroff abgestuft sind. Um diese Abstufung zu veranschaulichen, sei hier das arithmetische Mittel der Abundanz der 7 führenden Vertreter von 20 terrestrischen Jahresassoziationen aus ganz verschiedenartigen Standorten gegeben, die mit Fallen ermittelt wurden.

1. Stelle	30,3%	5. Stelle	6,4%
2. Stelle	15,5%	6. Stelle	5,1%
3. Stelle	12,1%	7. Stelle	3,9%
4. Stelle	9,1%		

Diese Erscheinung kann nicht darauf zurückgeführt werden, daß Arten mit größerem Aktionsradius weit häufiger in Fallen geraten würden als weniger bewegliche; denn dann müßten bestimmte Arten oder Gattungen mit einer gewissen Regelmäßigkeit an der Spitze der Assoziationen stehen; dann wäre auch ganz allgemein zu erwarten, daß größere, vagante Formen, deren weiterer Aktionsradius schon allein aus ihrer Beinlänge resultiert, gegenüber den kleinen meist in der Überzahl sein würden. Statt dessen dominieren vielfach kleinste Micryphantiden, auch wenn sich große Lycosiden zahlreich im Biotop befinden. So sind beispielsweise die ersten Stellen der auf einer sandigen Ödfläche festgestellten Assoziation folgendermaßen besetzt:

Art:	Abundanz:	Mittlere Körperlänge (♀):
<i>Typhochraestus digitatus</i>	42,6%	1,4 mm
<i>Xerolycosa nemoralis</i>	11,2%	6,0 mm
<i>Lycosa tarsalis</i>	9,2%	5,3 mm
<i>Centromerita bicolor</i>	9,0%	3,2 mm
<i>Trochosa terricola</i>	5,3%	10,7 mm

Diese Abundanzstaffelung zeigt sich übrigens nicht nur bei der horizontalen Verteilung der Bodenassoziation, sondern auch bei der vertikalen Verteilung der Spinnen über verschiedene Strata. Sie tritt außerdem bei ganz andersartigen Fangmethoden in Erscheinung. So hat BALOGH (1938) am Adlerberg bei Budapest in 5 verschiedenen Sammelbezirken die Spinnenassoziationen der einzelnen Strata (Föhren, Gebüsch, Untergewächs, Boden, unter Steinen) untersucht. Die Sammelbezirke waren dabei so gewählt, daß jeder Biotop gleichzeitig ein anderes Stratum bot. Je nach Stratum bediente sich BALOGH folgender Fangmethoden: Klopfapparat, Kescher und Exhaustor im Zeitfang. Die dabei gewonnenen Abundanzmittelwerte der 7 führenden Assoziationselemente, berechnet aus den 5 Strata, betragen:

1. Stelle	30,6%	5. Stelle	4,3%
2. Stelle	11,7%	6. Stelle	3,7%
3. Stelle	8,1%	7. Stelle	2,8%
4. Stelle	6,8%		

Obwohl unsere Fangmethoden nur annähernd vergleichbar sind, wäre hinsichtlich des relativen Staffelungsgrades eine größere Übereinstimmung mit meinen oben gegebenen Mittelwerten kaum zu erwarten. Diese Staffelung ist also nicht nur bei der horizontalen, sondern auch vertikalen Verteilung gleich ausgeprägt.

Die schroffe Abstufung der Abundanzwerte verrät, daß im Mikrobiotop stets nur einzelne Arten häufig sind und unter diesen wiederum eine dominiert. Um eine Erklärung für diese synökologische Erscheinung zu finden, wollen wir uns zunächst vergegenwärtigen, inwieweit es auf Grund unserer bisherigen autökologischen Kenntnisse möglich ist, die Assoziation eines Standortes qualitativ und quantitativ vorauszubestimmen.

Verfasser hat 1952 (S. 114—119) eine Gruppierung der Arten nach ihrer statistisch festgestellten Reaktionsbreite gegenüber grob abgestuften Wirkungsgraden der maßgebenden und klimapragenden Hauptfaktoren Feuchtigkeit und Sonneneinstrahlung vorgenommen. Diese Übersicht gestattet es, schon auf Grund grober Abschätzung der Feuchtigkeits- und Belichtungsverhältnisse eines Biotops auf seine Spinnenbesiedlung zu schließen. Die hierbei zusammengestellten Arten stellen eine theoretische Assoziation dar, die sich mit der in diesem Biotop praktisch feststellbaren weitgehend deckt. Allerdings muß dabei die Umgebung des Biotops berücksichtigt und in Rechnung gestellt werden,

daß euryvalente Arten gelegentlich aus Nachbarbiotopen einstrahlen können. Die quantitative Größe solcher Einstrahlung hängt von dem Grad des Faktorengefälles zwischen den benachbarten Biotopen ab. Sie ist zwischen Feucht- und Trockenwiese, Nadel- und Laubwald größer als zwischen Wald und Wiese, Bruchwald und Föhrenwald. Die Zusammenstellung einer theoretischen Assoziation und ihr Vergleich mit einer praktisch durch Fallenfang über 1 Jahr ermittelten¹ sei an 2 Beispielen gezeigt. Dazu werden 2 Biotope gewählt, denen starke Bodenfeuchtigkeit gemeinsam ist, die sich aber in den Belichtungsverhältnissen grundsätzlich unterscheiden: das Bestandsinnere eines Erlenbruchwaldes und eine Sauerwiese am Rande eines Bruchwaldes.

1. *Beispiel.* Der Erlenbruchwald stellt einen geschlossenen, stellenweise gelichteten Altholzbestand auf humusreichem Boden dar. (Unterwuchs nur stellenweise, Krautschicht üppig.) Das Gebiet ist durch hohen Grundwasserstand sehr feucht bis sumpfig. In diesem Biotop sind also in erster Linie ombrobiont-hygrobionte bzw. mit erweiterter Valenz ombrophil-hygrophile Arten als Stammassoziation zu erwarten. Durch die stellenweise bessere Insolation ist aber auch hemiombrophilen Elementen eine Aufenthaltsmöglichkeit gegeben. Eine Einstrahlung hemihygrophiler Formen aus den wesentlich trockener gelegenen Randbezirken (Föhrenbestände auf Sandboden) ist denkbar, dürfte aber in Anbetracht der starken Feuchtigkeitsunterschiede nicht ins Gewicht fallen.

An Hand der (1952 gegebenen) Zusammenstellung der ökologischen Typen werden nun alle in Frage kommenden Gruppen notiert, wobei wir nur die vorzugsweise terrestrischen Arten berücksichtigen wollen, da der an diesem Standort durchgeführte Fallenfang eine weitgehend lückenlose qualitative und richtige quantitative Erfassung dieser Assoziation garantiert.

<i>ombrobiont-hygrobiont</i>	<i>hylobiont-hygrophil</i>
(<i>Cybaeus angustiarum</i>)	<i>Ceratinella brevis</i>
<i>Pirata hygrophilus</i>	<i>Walckenaera obtusa</i>
	<i>Centromerus silvaticus</i>
<i>ombrophil-hygrobiont</i>	<i>Lepthyphantes cristatus</i>
<i>Dicymbium tibiale</i>	<i>Gonatum isabellinum</i>
<i>Bathyphantes concolor</i>	
<i>Bathyphantes nigrinus</i>	<i>euryphot-hygrobiont</i>
<i>Clubiona lutescens</i>	<i>Pachygnatha clerckii</i>
	<i>Lycosa saccata</i>
<i>ombrophil-hygrophil</i>	
(<i>Tegenaria torpida</i>)	<i>euryphot-euryhygr</i>
<i>Oxyptila trux</i>	<i>Centromerita bicolor</i>
<i>Lepthyphantes pallidus</i>	<i>Xysticus viaticus</i>
<i>Pachygnatha listeri</i>	
<i>Bathyphantes gracilis</i>	

Außer dieser Stammassoziation ist an unbedeutende Einstrahlung von euryvalenten Arten aus folgenden Typengruppen zu denken:

¹ Diese Assoziationen sind in meiner Arbeit (1948) als Beispiele Nr. 56 (S. 344) und 77 (S. 370) festgelegt.

<i>hemiombrophil-hygrobiont</i>	<i>hylobiont-hemihygrophil</i>
<i>Centromerus expertus</i>	<i>Robertus lividus</i>
<i>hemiombrophil-hygrophil</i>	<i>Erigonella latifrons</i>
<i>Oxyptila brevipes</i>	<i>Minyriolus pusillus</i>
<i>(Linyphia clathrata)</i>	<i>Walckenaera acuminata</i>
	<i>Macrargus rufus</i>
<i>ombrophil-hemihygrophil</i>	<i>Lepthyphantes mansuetus</i>
<i>Coelotes atropos</i>	<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Coelotes inermis</i>	<i>Crustulina guttata</i>
<i>Cicurina cicur</i>	<i>Zora spinimana</i>
<i>Lepthyphantes tenebricola</i>	
<i>Cryphoea silvicola</i>	

Und hier sind theoretische und praktisch festgestellte Assoziation einander gegenübergestellt. Dabei wird die Reihenfolge der theoretischen Assoziation zum leichteren Vergleich der nach Abundanzwerten abgestuften praktischen Gesamtassoziation angeglichen. Die Arten der theoretischen Stammassoziation sind mit + hervorgehoben.

Theoretische Assoziation	Praktische Assoziation (Fangziffer: 386 ad. Ind.)
<i>Centromerus silvaticus</i> +	<i>Centromerus silvaticus</i> 26,4% Abundanz
<i>Bathyphantes concolor</i> +	<i>Bathyphantes concolor</i> 14,3%
<i>Dicymbium tibiale</i> + (nicht eingestuft)	<i>Dicymbium tibiale</i> 12,4%
<i>Pirata hygrophilus</i> +	<i>Minyriolus servulus</i> 7,8%
<i>Bathyphantes gracilis</i> +	<i>Pirata hygrophilus</i> 6,2%
<i>Pachygnatha clerckii</i> +	<i>Bathyphantes gracilis</i> 6,2%
<i>Pachygnatha listeri</i> +	<i>Pachygnatha clerckii</i> 3,6%
<i>Bathyphantes nigrinus</i> +	<i>Pachygnatha listeri</i> 3,4%
<i>Lepthyphantes cristatus</i> +	<i>Bathyphantes nigrinus</i> 3,1%
<i>Oxyptila trux</i> +	<i>Lepthyphantes cristatus</i> 2,3%
<i>Centromerus expertus</i>	<i>Oxyptila trux</i> 1,8%
<i>Gonatum isabellinum</i> +	<i>Centromerus expertus</i> 1,6%
<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Gonatum isabellinum</i> 1,6%
<i>Robertus lividus</i>	<i>Agroeca brunnea</i> 1,2%
	<i>Robertus lividus</i> 1,0%
	unter 1%:
<i>Lepthyphantes pallidus</i> +	<i>Lepthyphantes pallidus</i>
<i>Walckenaera obtusa</i> +	<i>Walckenaera obtusa</i>
<i>Clubiona lutescens</i> +	<i>Clubiona lutescens</i>
<i>Ceratinella brevis</i> +	<i>Ceratinella brevis</i>
<i>Coelotes atropos</i>	<i>Coelotes atropos</i>
<i>Zora spinimana</i>	<i>Zora spinimana</i>
<i>Cicurina cicur</i>	<i>Cicurina cicur</i>
	<i>Lycosa pullata</i>
	<i>Pirata latitans</i>
(nicht eingestuft)	<i>Erigonella hiemalis</i>
	<i>Trochosa terricola</i>
(nicht eingestuft)	<i>Erigonella ignobilis</i>
	<i>Porrhomma pygmaeum</i>
(nicht eingestuft)	<i>Walckenaera melanocephala</i>
<i>Oxyptila brevipes</i>	
<i>Linyphia clathrata</i>	

Coelotes inermis
Lepthyphantes tenebricola
Cryphoea silvicola
Erigonella latifrons
Minyriolus pusillus
Walckenaera acuminata
Macrargus rufus
Lepthyphantes mansuetus
Crustulina guttata

Diese Gegenüberstellung zeigt, daß sich die theoretisch erwartete Assoziation, insbesondere die Stammassoziation, mit der praktischen bis zu Arten von nur 1 % Abundanz (das sind 3—4 Individuen je Jahresfang!) und darunter deckt. Nur *Minyriolus servulus* macht eine Ausnahme. Diese Art konnte nicht in die Gruppierung aufgenommen werden, da sie im ganzen Untersuchungsgebiet nur an einer Stelle, eben in diesem Biotop, gefunden wurde. Auch andere Arten zeigen nur lokale Verbreitung und konnten daher in die theoretische Assoziation nicht aufgenommen (*Erigonella hiemalis* und *ignobilis*, *Walckenaera melanocephala*) bzw. in der praktischen kaum erwartet werden (*Cybaeus angustiarum*, *Tegenaria torpida*). Das Vorkommen der restlichen, nur in Einzelindividuen auftretenden Arten erklärt sich als Einstrahlung aus benachbarten Biotopen, die bei einem ununterbrochenen Fang während eines Jahres nicht verwunderlich und im einzelnen nicht sicher vorausszusagen ist. Auf eine Erklärung dieser Fälle soll daher verzichtet werden.

2. Beispiel. Große, humusreiche, sehr feuchte Wiese vor einem Erlenbruch, von einem Wassergraben durchzogen. Einstrahlung aus umliegenden, trockeneren Wiesen ist möglich, das Auftreten hygrophiler Arten vom nahen Wassergraben ist wahrscheinlich. In diesem Biotop sind in erster Linie photobiont-hygrobionte (bzw. -phile) Arten zu erwarten.

<i>photobiont-hygrobiont</i>	<i>photophil-hygrophil</i>
<i>Pirata latitans</i>	<i>Lycosa pullata</i>
<i>Arctosa leopardus</i>	<i>Erigone dentipalpis</i>
<i>Erigone atra</i>	
<i>photobiont-hygrophil</i>	<i>euryphot-hygrobiont</i>
<i>Stylothorax agrestis</i>	<i>Pachygnatha clerckii</i>
<i>Stylothorax retusa</i>	<i>Lycosa saccata</i>
<i>Trochosa spinipalpis</i>	<i>photophil-euryhygr</i>
<i>Oxyptila simplex</i>	<i>Pachygnatha degeeri</i>
<i>photophil-hygrobiont</i>	<i>euryphot-euryhygr</i>
<i>Porrhomma pygmaeum</i>	<i>Centromerita bicolor</i>
<i>Antistea elegans</i>	<i>Xysticus viaticus</i>

Außer dieser Stammassoziation ist vor allem geringe Einstrahlung von folgenden Arten zu erwarten:

<i>photobiont-hydrobiont</i>	<i>photobiont-hemihygrophil</i>
(vom Wassergraben)	(von Trockenwiesen)
<i>Pirata piraticus</i>	<i>Dicymbium nigrum</i>
<i>Trachygnatha dentata</i>	<i>Trochosa ruricola</i>
	<i>Lycosa tarsalis</i>
	<i>photophil-hemihygrophil</i>
	<i>Tarentula cuneata</i>
	<i>Tarentula pulverulenta</i>

Die Gegenüberstellung der Assoziationen:

Theoretische Assoziation

Stylothorax retusa +
Pirata latitans +
Pachygnatha clerckii +
Lycosa pullata +
Centromerita bicolor +
Lycosa tarsalis
Stylothorax agrestis +
Dicymbium nigrum
Erigone atra +
Trochosa spinipalpis +
Tarentula pulverulenta

Tarentula cuneata
Pachygnatha degeeri +
Oxyptila simplex +
Erigone dentipalpis +
Arctosa leopardus +
Pirata piraticus
Xysticus viaticus +
Antistea elegans +
Lycosa saccata +

(nicht eingestuft)

(nicht eingestuft)

Porrhomma pygmaeum
Trochosa ruricola
Trachygnatha dentata

Praktische Assoziation

(Fangziffer: 950 ad. Ind.)

Stylothorax retusa 38,2 % Abundanz
Pirata latitans 22,6 %
Pachygnatha clerckii 9,9 %
Lycosa pullata 8,1 %
Centromerita bicolor 3,8 %
Lycosa tarsalis 3,2 %
Stylothorax agrestis 3,0 %
Dicymbium nigrum 2,2 %
Erigone atra 2,1 %
Trochosa spinipalpis 1,7 %
Tarentula pulverulenta 1,3 %

unter 1%:

Tarentula cuneata
Pachygnatha degeeri
Oxyptila simplex
Erigone dentipalpis
Arctosa leopardus
Pirata piraticus
Xysticus viaticus
Antistea elegans
Lycosa saccata
Centromerus expertus
Xysticus pini
Robertus lividus
Lophomma stativum
Ceratinella brevis
Bathyphantes gracilis
Araeoncus humilis

Auch dieses Beispiel zeigt die weitgehende Übereinstimmung von theoretisch erwarteter und praktisch gefundener Assoziation. Die in der theoretischen Assoziation nicht enthaltenen Arten *Centromerus expertus* (hemiombrophil-hygrobiont), *Robertus lividus* (hylobiont-hemihygrophil), *Ceratinella brevis* (hylobiont-hygrophil) und *Bathyphantes gracilis* (ombrophil-hygrophil) sind vom nahen Bruchwalde eingestrahlt.

Die Beispiele ließen sich vermehren. Sie zeigen, daß sich die *qualitative Besiedlung eines Standortes bis herab zu Assoziationselementen mit nur 1% Abundanz*, das sind in der Regel einzelne Individuen, richtig bestimmen läßt. Doch bleibt ungewiß, in welcher Abundanz die im Biotop zu erwartenden Arten wirklich auftreten. Nur soviel läßt sich darüber voraussagen, daß die für die Faktorenkombination eines Standortes typischen Arten, die Stammassoziation („Eukonstante Arten“ nach TISCHLER 1949, S. 8), zahlreicher vorhanden sein werden, als die „akzidentiellen Arten“, deren Verbreitungsschwerpunkt in benach-

barten, andersartigen Lebensräumen liegt und die in den untersuchten Biotop unregelmäßig einstrahlen. Versucht man das quantitative Auftreten der Arten zu ergründen, so wird man zunächst daran denken, daß die führenden Elemente in den jeweiligen (Mikro-) Biotopen ihr Optimum finden und deshalb in großer Individuenzahl in Erscheinung treten. Selbstverständlich ist die von mir vorgenommene Gradation der klimabildenden Hauptfaktoren nur eine sehr grobe Gliederung, die zwar die Grobansprüche einer Art in abiotischer Hinsicht trifft und gewissermaßen die Grenzen des Vorkommens absteckt, aber etwaigen zusätzlichen Feinansprüchen nicht Rechnung tragen kann. Würde man auch diese kennen (könnte man folgern), so wäre es wahrscheinlich möglich, auch die quantitative Zusammensetzung einer Assoziation vorauszubestimmen. So lassen sich nach THIENEMANN (1950, S. 51) „das ‚Verbreitungsproblem‘¹ und das ‚Produktionsproblem‘ in Schärfe nicht trennen. . . Denn es ist augenscheinlich kein prinzipieller Unterschied vorhanden zwischen einer Untersuchung über das *Vorkommen* eines Organismus an einer bestimmten Stelle im Lebensraum *überhaupt* und einer solchen über die *Stärke* seines Auftretens in dem betreffenden Biotop“ — eine Auffassung, der sich auch STRENZKE (1951) anschließt.

Wie S. 103 noch gezeigt werden wird, heben sich schon unter den Bewohnern mittelfeuchter Gebiete, den hemihygrobioten bzw. -philen Arten des Waldbodens, deutlich 3 Untergruppen ab, deren Feuchtigkeitsansprüche innerhalb der Mittelwerte mehr nach trocken oder feucht neigen. Hier sind Feinansprüche deutlich zu erkennen. Aber selbst von den Vertretern dieser Untergruppen dominiert jeweils einer je Standort. Daraus könnte gefolgert werden, daß weitere Faktoren, die gerade die quantitative Entfaltung bestimmen, übersehen wurden. Vergleicht man nun alle Biotope, in denen eine Art hohe Abundanz erreicht, und prüft sie auf den jeweiligen Wirkungsgrad gemeinsamer Faktoren, so wird man allerdings bald zugeben müssen, daß eine Art in recht verschiedenartigen Biotopen gleich zahlreich sein kann und daß demnach ihre Ansprüche offenbar praktisch gar nicht so speziell sein können, wie man dies theoretisch annehmen wollte. Und wenn jede Spinnenart zu ihren allgemeinen mikroklimatischen Bedürfnissen noch weitere, sehr verborgene Sonderansprüche stellen würde, könnte die richtige Zusammenstellung einer theoretischen Assoziation von rund 20 Elementen kaum gelingen. Würden nämlich von 20 terrestrischen Arten, deren ökologischen Charakter ich als ombrophil-hygrophil charakterisiert habe, einige außer ihrer Hygrophilie noch eine spezielle Bindung an lockere oder geschichtete Laubstreu haben, andere an niedriges oder hohes Gras, wieder andere an nackten Boden oder an bestimmte Beutetiere, die nur stellenweise vorkommen, so wäre es nicht denkbar, alle

¹ „Verteilungsproblem“ in der Definition von STRENZKE (1951, S. 164).

diese Arten im Laufe eines Jahres mit beweisbarer Regelmäßigkeit in einer Falle zu finden. Gerade die richtige theoretische Voraussage einer größeren Artenkombination nach Maßgabe zweier Hauptfaktoren beweist, daß die einzelnen Arten weder an einen standörtlichen Komplex noch an andere, nicht in Rechnung gestellte Teilfaktoren enger gebunden sind. Doch bleibt die Frage offen, inwieweit ihr quantitatives Auftreten durch einen bestimmten, optimalen Wirkungsgrad dieser Hauptfaktoren bestimmt wird. Bei meinen Untersuchungen wurden zu den Zonenfängen vergleichsweise Messungen von Temperatur, Luftfeuchtigkeit und absolutem Wassergehalt des Bodens an den Fallenstandorten durchgeführt. Aus diesen allerdings nur probeweisen und damit unzureichenden Messungen war keine Zahl optimalen Bedürfnisses abzuleiten. Sie wurde auch mit laufenden Messungen von PALMGREN (1939) für *Dolomedes* nicht gefunden oder abgegrenzt. Wenn allgemein festzustellen und bezüglich von Einzelfaktoren durch Messungen zu beweisen ist, daß eine Art auch in anscheinend sehr gleichartigen Biotopen verschieden häufig ist, so bleibt freilich immer fraglich, ob diese Biotope wirklich gleich sind. Ein derartiger Beweis läßt sich bei Freilandbiotopen nicht führen. Es ist nur unwahrscheinlich, daß auch die im ganzen Untersuchungsgebiet häufigen Arten, denen man sozusagen auf Schritt und Tritt begegnen kann, nur an einzelnen Punkten ein Optimum finden sollten, das es ihnen gestattet, an die erste Stelle der Assoziation aufzurücken. Da wir aber weder die Gleichartigkeit einzelner Biotope beweisen noch das Optimum einer Art im Freiland ermitteln können, wollen wir bei unseren weiteren Überlegungen nicht von einer Art ausgehen, sondern von der Assoziation. *Wir wollen also nicht fragen, warum eine bestimmte Art in einem Biotop sehr häufig ist, sondern warum nur diese Art in ihm so hohe Abundanz erreicht.* Sicher wird diese Art dort ihr Optimum finden, aber auf Grund der autökologischen Studien ist ebenso sicher, daß noch wenigstens 3—4 weitere Arten dort bezüglich der abiotischen Faktoren ein Optimum finden müßten. Es ist also nicht einzusehen und durch die Wirkungsweise abiotischer Faktoren allein nicht erklärlich, warum nicht wenigstens 4—5 Arten in gleicher Abundanz nebeneinander leben sollten. Dies ist aber nur ausnahmsweise und in besonders variablen Biotopen der Fall, deren Artenreichtum und Besiedlungsdichte die quantitative Entfaltung der führenden Assoziationselemente hemmt. *Auf eine Art bezogen, müssen wir also folgern, daß ihr zwar die Biotope, in denen sie höchste Abundanz erreicht, ein Optimum bieten werden, daß sie aber wahrscheinlich nicht in jedem optimalen Biotop gleich hohe Abundanz erreicht.* Es steht also nichts im Wege, den Vorzugsbiotop und ökologischen Charakter einer Art nach Maßgabe ihres quantitativen Auftretens abzuleiten, doch dürfen wir nicht erwarten, dieser Art in dem festgestellten Vorzugsbiotop überall

in gleicher Häufigkeit zu begegnen. Diese Überlegungen führen also zu dem Schluß, daß das quantitative Auftreten der Arten mit dem Wirkungsgrad abiotischer Faktoren allein nicht ausreichend erklärt werden kann. *Ist eine bestimmte Konstellation abiotischer Faktoren Voraussetzung für das Vorkommen einer Art überhaupt („Verteilung“) und gibt der spezifische Wirkungsgrad dieser Faktoren die Möglichkeit zur Entfaltung („Produktion“), so dürfte die Stärke dieser Entfaltung durch Konkurrenzfaktoren bestimmt und reguliert werden.* Schon BRISTOWE (1941, S. 508) äußerte die Ansicht: „The climate of countries and of habitats limits the number of species, and food supply the number of individuals, which can inhabit them.“

Um der Lösung dieses Problems näher zu kommen, empfiehlt sich das Studium von Arten, deren unregelmäßiges Auftreten darauf hindeutet, daß sie im ganzen Gebiet kein Optimum finden. Im Konkurrenzkampf hat allgemein sicher die Art einen Vorteil, die in ihrem Biotop ein Optimum findet. Arten, die vielleicht im ganzen Gebiet kein solches finden, dürften daher die Auswirkungen interspezifischer Konkurrenz besonders deutlich zeigen und uns den Schlüssel dafür geben, unter welchen Umständen sie sich halten können und welche Faktoren ihre Abundanz steuern. Solche Arten sind verständlicherweise in der Regel individuenschwach vertreten und zeigen ein unregelmäßiges, inselartiges Vorkommen. Die minimale Fangziffer und die wenigen, oft sehr ungleichartigen Biotope, in denen sie gefunden werden, erlauben keine weiteren Schlüsse. *Eine Art aber erreicht im Untersuchungsgebiet trotz unregelmäßigen Auftretens stellenweise Abundanzwerte zwischen 8 und 39 % der Jahresassoziation: es ist *Lycosa chelata*.* Sie fällt deshalb aus der Reihe der übrigen Formen, weil sich die wenigen Biotope, in denen sie in höherer Abundanz lebt und die in verschiedenen Teilen des Untersuchungsgebietes liegen, unter keinem Gesichtspunkt vergleichen lassen. DAHL (1908, S. 421) schreibt über ihr Vorkommen:

„Ich fand die Art in der Ebene nur im Bereich des Laubholzwaldes, d. h. nur soweit sich abgefallene Blätter fanden, aber auch dann nur an sehr sonnigen, warmen Stellen. . . In den Nadelholzwäldern traf ich sie immer weit seltener. . . Sobald einzelne Laubholzbäume dem Nadelholzwalde eingestreut sind, wird *L. chelata* häufiger. Nur in den Alpen, etwa 1000 m hoch, fand ich sie zahlreich auch im reinen Nadelholzwalde.“

Die Betonung liegt also auf Laubwald, sonnig, warm. Auch hier erreicht die Art ihre höchste Abundanz in zwar schattiger, aber windgeschützter, mit Eschen und Erlen bestockter kleiner Senke am Rande eines ausgedehnten Föhrenbestandes. Sie fehlt aber in anderen Bruchwäldern und ist in Laubholzbeständen, auch an südlich exponierten, warmen Stellen, nur vereinzelt zu beobachten. Hohe Abundanz läßt sie jedoch weiter im Moos eines Föhrenstangenholzes auf feuchtem Standort, weitab von Laubholz, feststellen und fehlt an anderer Stelle in

analogem Biotop. DAHLS Beobachtungen sprechen dafür, daß die Art im Untersuchungsgebiet kein eigentliches Optimum findet, da die Nadelholzbestände bei weitem überwiegen und die Laubholzbestände vielleicht durch andere Arten präokkupiert waren. Wegen der besonderen Wärme des Gesamtgebietes aber kommt die Art neben anderen wärme-liebenden Formen (*Uloborus walckenaerius*, *Cyclosa oculata*, *Theridium blackwalli*) überhaupt hier vor. Doch ist sie vermutlich wenig resistent und kann sich nur dort halten, wo die Konkurrenz gering ist. Schon 1952 glaubte ich das unregelmäßige Auftreten von *L. chelata*, das ich

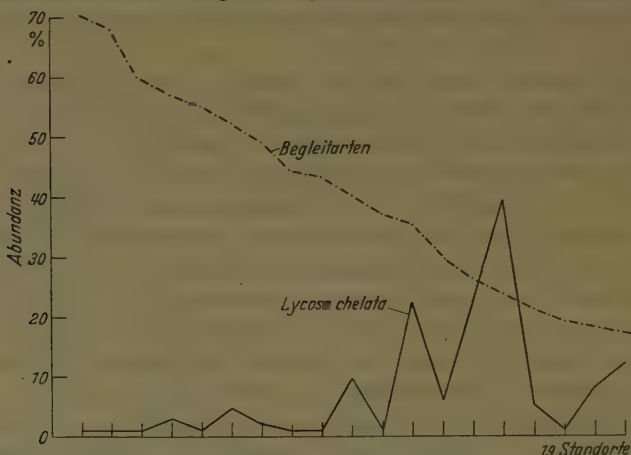


Abb. 4. Abundanzverhältnis zwischen *Lycosa chelata* und den übrigen größeren Arten (Begleitarten) an 19 Standorten.

nach allen möglichen Gesichtspunkten geprüft habe, mit der Abundanz der übrigen, größeren Arten im Biotop in Zusammenhang bringen zu können. *Chelata* wird nur dort führend, wo größere Begleitarten eine geringe Abundanz berechnen lassen. Diese Korrelation der Abundanz zwischen *Lycosa chelata* und Begleitarten ist in Abb. 4 graphisch dargestellt. In diese Darstellung wurden alle jene Fallenstandorte einbezogen, an denen *chelata* wenigstens in Einzahl erbeutet wurde. Einzelfänge können natürlich gelegentlich auch in pessimalem Biotop gemacht werden. Daraus dürfte sich die Unregelmäßigkeit der Kurve erklären. Im ganzen aber ist aus der Darstellung abzulesen, daß die Abundanz von *chelata* mit Abnahme der Häufigkeit der Begleitarten wächst. Als Begleitarten sind gerechnet: *Coelotes atropos* und *inermis*, *Histoipona torpida*, *Cicurina cicur*, *Trochosa terricola*, *Tarentula pulverulenta* und *aculeata*, *Lycosa tarsalis*, *paludicola* und *saccata*, *Xerolycosa nemoralis*, *Amaurobius fenestralis*, *Agroeca brunnea* und *proxima*, *Harpactes lepidus*, *Zelotes latreillei* und *petrensis*, *Zelotes subterraneus*, *Drassodes signifer*. Trotzdem nun diese Wechselbeziehungen unverkennbar sind, könnte

ihre Deutung als direkte Beziehung dieser Arten zueinander doch bis zu einem gewissen Grade ein Trugschluß sein. Da festgestellt wurde, daß in jeder Assoziation eine starke Staffelung der Abundanzwerte in Erscheinung tritt, muß natürlich bei Dominanz von *chelata* der quantitative Anteil der übrigen Arten zurücktreten und umgekehrt. Da aber aus den oben angestellten Überlegungen zu folgern ist, daß für die Abundanzhöhe auch interspezifische Beziehungen von ausschlaggebender Bedeutung sein müssen, liegt es nahe, dieses Problem einmal vom Gesichtspunkt der zeitlichen Sonderung zu betrachten. Vergleichen wir die Fortpflanzungszeit der führenden Assoziationselemente, so fällt auf, daß die Fortpflanzungszeit von *Lycosa chelata* an den Orten ihres stärksten Auftretens stets in eine zeitliche Lücke fällt, die zwischen den Fortpflanzungsperioden aller übrigen größeren Arten liegt (vgl. Abb. 6). Diese Beobachtung drängt uns die Frage auf, ob nicht ganz allgemein eine zeitliche Sonderung zwischen den führenden Assoziationselementen vorliegt.

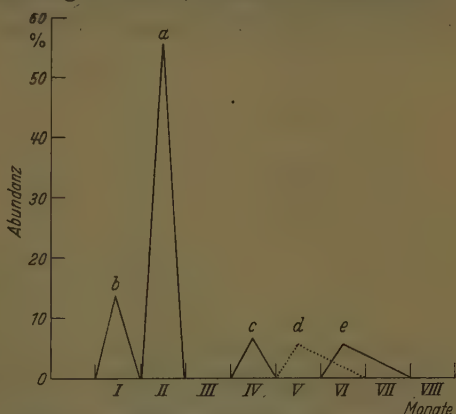


Abb. 5. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der 5 ersten Assoziationselemente (Typ 1) in vereinfachter phänologischer Darstellung. *a* *Macrargus carpenteri*, *b* *Typhochraestus digitatus*, *c* *Trochosa terricola*, *d* *Tarentula aculeata*, *e* *Xerolycosa nemoralis*.

Bei der Prüfung von 50 terrestrischen Assoziationen, die über mindestens 1 Jahr mittels Fallen registriert wurden, läßt sich nun zunächst allgemein die überraschende Feststellung machen, daß in 47 Fällen wenigstens die beiden führenden Arten einer Assoziation zeitlich gesondert sind, d. h. daß der Höhepunkt ihrer Kopulationszeit um mindestens 1 Monat differiert. Darüber hinaus aber sind vielfach noch weitere Arten in der Reihenfolge ihrer relativen Häufigkeit voneinander zeitlich gesondert.

Die mannigfachen Sonderungsgrade, deren Einzelbesprechung zu weit führen würde, lassen sich wenigen Grundtypen zuordnen. Diese seien hier aufgezeigt. Auf den zur Veranschaulichung jedes Typs beigegebenen Abbildungen sind im Sinne vereinfachter phänologischer Kurven jeweils die Kopulationszeit der Arten (bei diplochronen Arten nur die Primärperiode) eingetragen, wobei die Höhe der Kurven den Abundanzwert der Spezies anzeigt.

Typ 1. Die 5 ersten Stellen der Assoziation sind zeitlich klar gesondert (Abb. 5). Eine so weitgehende Sonderung kommt nur in 2 Fällen vor. Hier heißt die Artenkombination in der Reihenfolge ihrer Abundanz:

<i>Macrargus carpenteri</i>	<i>Tarentula aculeata</i>
<i>Typhochraestus digitatus</i>	<i>Macrargus carpenteri</i>
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Typhochraestus digitatus</i>
<i>Tarentula aculeata</i>	<i>Tapinocyba antepenultima</i>
<i>Xerolycosa nemoralis</i>	<i>Xerolycosa nemoralis</i>

Typ 2a. Die ersten 4—6 Stellen sind gesondert, doch fällt die Kopulationszeit einer der beiden ersten mit einer der 3.—6. Art zusammen (Abb. 6). Diese isochronen Arten sind aber tageszeitlich gesondert, indem die eine ein Tag-, die andere ein Nachträuber ist (*Trochosa terricola* — *Agroeca brunnea*, *Trochosa terricola* — *Coelotes inermis*,

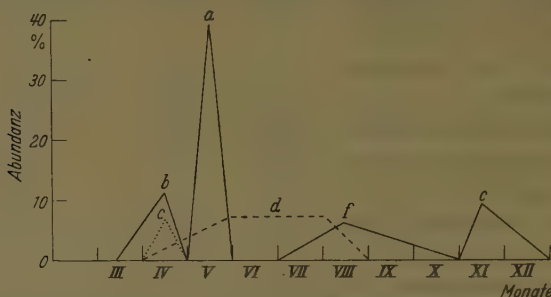


Abb. 6. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der 6 ersten Assoziationselemente nach Typ 2a, von denen zwar *b* und *e* isochron, aber als Tag- und Nachträuber tageszeitlich gesondert sind. *a* *Lycosa chelata*, *b* *Agroeca brunnea*, *c* *Centromerus silvaticus*, *d* *Bathyphantes concolor*, *e* *Trochosa terricola*, *f* *Coelotes atropos*.

Trochosa terricola — *Harpactes lepidus*). Diesem Typ folgen 8 Assoziationen. Die Artenkombination:

<i>Lycosa chelata</i>	<i>Coelotes inermis</i>	<i>Macrargus carpenteri</i>
<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Coelotes atropos</i>	<i>Tarentula pulverulenta</i>
<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Lepthyphantes tenebricola</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Bathyphantes concolor</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	
<i>Coelotes atropos</i>		<i>Macrargus carpenteri</i>
	<i>Macrargus carpenteri</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Cicurina cicur</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Lycosa chelata</i>
<i>Macrargus herbigradus</i>	<i>Tarentula aculeata</i>	<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Harpactes lepidus</i>	<i>Agroeca brunnea</i>	
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Cicurina cicur</i>	
<i>Trochosa terricola</i>		<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Cicurina cicur</i>		<i>Centromerus silvaticus</i>
<i>Agroeca brunnea</i>		<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Drassodes signifer</i>		<i>Trochosa terricola</i>
<i>Macrargus carpenteri</i>		

Typ 2b. Die beiden führenden Arten zeigen nur tageszeitliche Sonderung (*Trochosa terricola* — *Agroeca brunnea*, *Tarentula aculeata* — *Zelotes electus*), weitere Elemente aber jahreszeitliche Sonderung (Abb. 7). Diesem Typ folgen 3 Assoziationen. Ihre Artenkombination:

<i>Trochosa terricola</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Macrargus carpenteri</i>
<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Tarentula aculeata</i>
<i>Tarentula aculeata</i>	(<i>Lycosa saccata</i>)	<i>Zelotes electus</i>
<i>Macrargus rufus</i>	<i>Oxyptila brevipes</i>	<i>Phrurolithus festivus</i>
		<i>Xysticus sabulosus</i>

Typ 2c. Die Fortpflanzungszeit der beiden führenden oder an 1. und 3. Stelle stehenden Arten fällt zusammen, doch ist es in Anbetracht ihrer beträchtlichen Größendifferenz wahrscheinlich, daß sie sich gegenseitig ignorieren (Abb. 8). Die kleine Art ist stets *Hahnia pusilla*

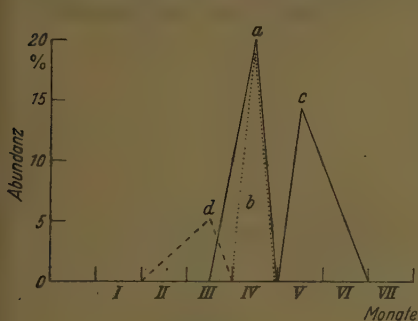


Abb. 7.

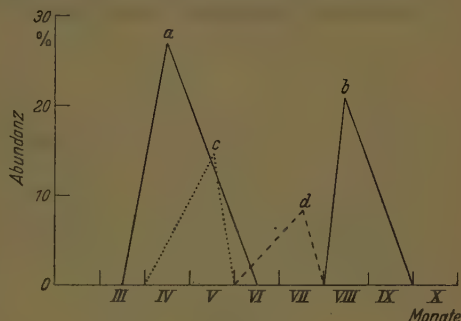


Abb. 8.

Abb. 7. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der 4 ersten Assoziationselemente nach Typ 2b, von denen *a* und *b* isochron, aber tageszeitlich gesondert sind. *a* *Agroeca brunnea*, *b* *Trochosa terricola*, *c* *Tarentula aculeata*, *d* *Macrargus rufus*.

Abb. 8. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der 4 ersten Assoziationselemente nach Typ 2c. *a* *Coelotes inermis*, *b* *Coelotes atropos*, *c* *Hahnia pusilla*, *d* *Histopona torpida*.

(♀ 1,4—1,5 mm Körperlänge), die sich außerdem durch verstecktere Lebensweise dem Zugriff der großen Arten entziehen könnte. Die großen Arten sind mehrfach *Coelotes inermis* (9—12 mm), in Einzelfällen *Tarentula pulverulenta* (6,5—10 mm) und *Lycosa chelata* (7 mm). Diesem Typ folgen 6 Assoziationen. Ihre Artenkombination:

<i>Coelotes inermis</i>	<i>Coelotes inermis</i>	<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Coelotes atropos</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Tarentula pulverulenta</i>
<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Micronetaria viaria</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Histopona torpida</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Aulonia albimana</i>
		<i>Centromerus silvaticus</i>
<i>Coelotes inermis</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	
<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Pelecopsis thoracatus</i>	<i>Coelotes inermis</i>
<i>Coelotes atropos</i>	<i>Lycosa chelata</i>	<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Lepthyphantes pallidus</i>
		<i>Micronetaria viaria</i>

Typ 3. Die 4 ersten Stellen der Assoziation sind deutlich gesondert (Abb. 9). Diesem Typ folgen 6 Assoziationen, deren Artenkombination heißt:

<i>Macrargus carpenteri</i>	<i>Macrargus carpenteri</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Aulonia albimana</i>
<i>Xerolycosa nemoralis</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Lycosa chelata</i>	<i>Drassodes signifer</i>	<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Centromerus incilius</i>	<i>Centromerita bicolor</i>	<i>Macrargus rufus</i>
<i>Trochosa terricola</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Phrurolithus festivus</i>	<i>Coelotes atropos</i>	<i>Cicurina cicur</i>

Typ 4a und b. Die 3 ersten Stellen sind gesondert. Hier können wir zwischen (a) Wald- und (b) Wiesenform unterscheiden. Bei a ist die Sonderung deutlicher ausgeprägt (Abb. 10). Durch die stärkeren kli-

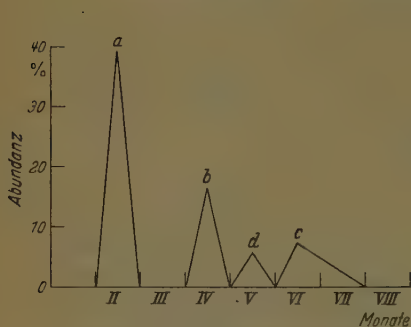


Abb. 9.

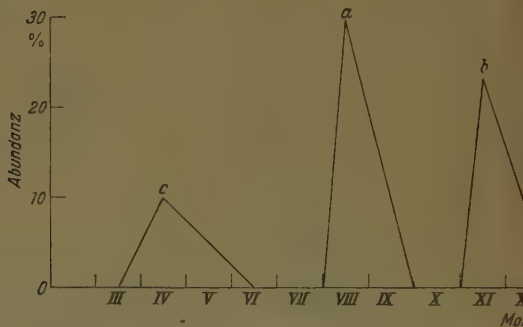


Abb. 10.

Abb. 9. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der 4 ersten Assoziationselemente nach Typ 3. a *Macrargus carpenteri*, b *Trochosa terricola*, c *Xerolycosa nemoralis*, d *Lycosa chelata*.

Abb. 10. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der ersten 3 Arten nach Typ 4a (Waldform). a *Coelotes atropos*, b *Cicurina cicur*, c *Coelotes inermis*.

matischen Schwankungen auf freiem Wiesenplan und durch den Einfluß der Heumahd bedingt, ist bei b die gesamte Fortpflanzungsperiode seitlich komprimiert und auf die Monate April bis August zusammenge- drängt. Trotz dieses Stauens aber kann eine zeitliche Sonderung noch wohlausgeprägt sein, wie Abb. 11 zeigt. Der Waldform folgen 9, der Wiesenform 2 Assoziationen mit folgender Artenkombination:

a) <i>Coelotes atropos</i>	<i>Histoipona torpida</i>	<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Cicurina cicur</i>	<i>Coelotes atropos</i>	<i>Lycosa chelata</i>
<i>Coelotes inermis</i>	<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Hahnia pusilla</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>
<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Macrargus rufus</i>	<i>Coelotes inermis</i>
<i>Aulonia albimana</i>	<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Bathypantes concolor</i>
<i>Coelotes inermis</i>	<i>Cicurina cicur</i>	<i>Tarentula pulverulenta</i>
<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Agroeca brunnea</i>	<i>Trochosa terricola</i>
<i>Lepthyphantes tenebricola</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>
b) <i>Lycosa tarsalis</i>	<i>Lycosa tarsalis</i>	
<i>Tarentula pulverulenta</i>	<i>Lycosa pullata</i>	
<i>Pirata latitans</i>	<i>Pachygnatha clerckii</i>	

Typ 5. Nur die beiden führenden Assoziationselemente sind zeitlich gesondert, die Kopulationszeit der Arten an 3.—6. Stelle fällt teilweise mit der der dominierenden Arten zusammen, läßt aber untereinander wieder eine Sonderung erkennen (Abb. 12). Diesem Typus folgen 11 Assoziationen. Die Artenkombination:

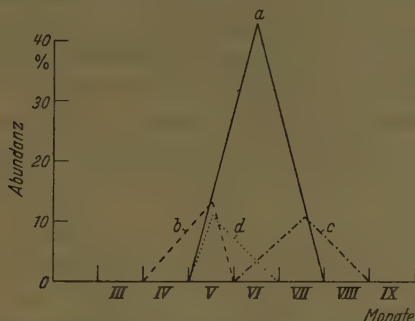


Abb. 11. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der ersten 3 Arten nach Typ 4b (Wiesenform). a *Lycosa tarsalis*, b *Tarentula pulverulenta*, c *Pirata latitans*, d *Lycosa pullata*.

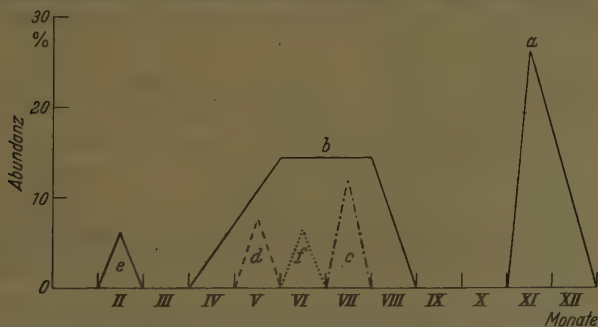


Abb. 12. Beispiel einer zeitlichen Sonderung der ersten 2 Arten nach Typ 5. a *Centromerus silvaticus*, b *Bathyphantes concolor*, c *Dicymbium tibiale*, d *Minyriolus servulus*, e *Bathyphantes gracilis*, f *Pirata hygrophilus*.

<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Erigone atra</i>
<i>Bathyphantes concolor</i>	<i>Coelotes inermis</i>	<i>Stylothorax retusa</i>
<i>Bathyphantes nigrinus</i>	<i>Centromerus silvaticus</i>	<i>Agroeca brunnea</i>
<i>Lycosa pullata</i>	<i>Lepthyphantes mansuetus</i>	<i>Coelotes atropos</i>
<i>Coelotes atropos</i>	<i>Trochosa terricola</i>	<i>Coelotes atropos</i>
<i>Coelotes inermis</i>	<i>Lycosa pullata</i>	<i>Hahnia pusilla</i>
<i>Typhochraestus digitatus</i>	<i>Lycosa tarsalis</i>	
<i>Xerolycosa nemoralis</i>	<i>Pachygnatha clerckii</i>	

Typ 6. Die Fortpflanzungsperiode der beiden führenden Arten fällt zusammen. Eine zeitliche Sonderung zeigt sich aber weiter zwischen den Arten mit geringerer Abundanz (Abb. 13). Diesem Typ folgen nur 3 Assoziationen mit folgender Artenkombination:

Lycosa pullata
Tarentula pulverulenta
Trochosa terricola
Pirata latitans
Centromerita bicolor

Coelotes inermis
Harpactes lepidus
Coelotes atropos
Cicurina cicur

Stylothorax retusa
Pirata latitans
Pachygnatha clerckii
Lycosa pullata

Zusammenfassend läßt sich diese Statistik also folgendermaßen auswerten: Will man auch die Fälle einer tageszeitlichen Sonderung (Typ 2a und b) und einer extremen Größendifferenz (Typ 2c) in Rechnung stellen — was durchaus berechtigt erscheint —, so sind in 25 der untersuchten 50 Assoziationen die ersten 4—5 Assoziationsmitglieder zeitlich gesondert, in weiteren 11 Assoziationen die ersten 3, in 11 die

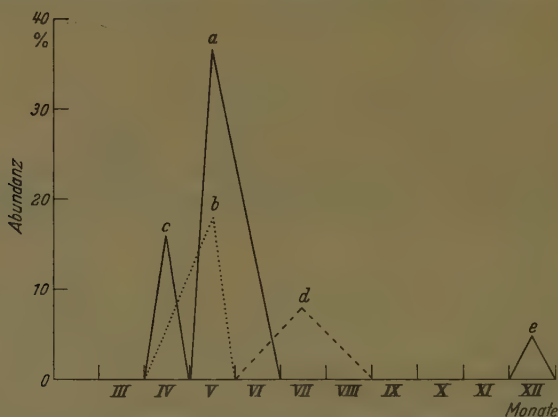


Abb. 13. Beispiel einer Assoziation, bei der die beiden führenden Arten isochron, die folgenden aber wieder zeitlich gesondert sind (Typ 6). a *Lycosa pullata*, b *Tarentula pulverulenta*, c *Trochosa terricola*, d *Pirata latitans*, e *Centromerita bicolor*.

ersten 2 Arten. Nur in 3 Assoziationen fällt die Fortpflanzungszeit der beiden führenden Arten zusammen. Diese Fälle können um so unbedenklicher als Ausnahmen gewertet werden, als hier die zeitliche Sonderung zwischen den Arten ab 3. Stelle wieder in Erscheinung tritt.

Das Bestreben einer zeitlichen Sonderung würde sicher noch deutlicher, wenn man nicht die Reihenfolge der Arten nach Maßgabe ihrer Abundanz beachten, sondern einfach prüfen würde, wie viele der 5—7 häufigsten Arten gesonderte Kopulationszeit haben. Bemerkenswerterweise findet sich keine Assoziation, bei der auch nur die ersten 3 Assoziationselemente gleiche Kopulationszeit haben. Wäre also dieses Phänomen einer zeitlichen Sonderung ein reiner Zufall und würde sich die Assoziation der Arten allein aus der spezifischen Wirksamkeit abiotischer Faktoren ergeben, so wäre zu erwarten, daß sich mehrfach eine Kombination von wenigstens 3 häufigeren Arten, die gleiche Kopulationszeit haben, rein zufällig ergeben würde. Der statistische Nachweis dieser intergenerischen zeitlichen Sonderung muß um so mehr

überzeugen, als nach meiner früheren Feststellung (1954, S. 668), auf die hier schon mehrfach hingewiesen wurde, der Hauptkopulationsmonat der Mai ist und die Masse der Arten von April bis Juni zur Fortpflanzung schreitet. Ergänzend dazu sei hier noch vor Augen geführt, daß 26% aller gefundenen Arten im Mai, 21% im April, 19% im Juni und 9% im Juli Kopulationszeit haben. Demnach pflanzen sich von April bis Juli 75% der Arten fort. Die restlichen 25% sind über die Monate August bis März ziemlich gleichmäßig verteilt.

Es soll nun mit diesen Feststellungen nicht der Beweis geführt werden, daß die Arten sich nur dann entfalten können, wenn ihre Fortpflanzungsperiode zufällig in eine zeitliche Lücke fällt. Es werden sicher noch weitere interspezifische Beziehungen auch zwischen entfernt verwandten Formen einer Assoziation bestehen. Die zeitliche Sonderung aber ist zunächst der einzige Ausdruck einer interspezifischen Konkurrenz, der aus der Statistik abzulesen ist. Weitere Aufschlüsse dürften sich ergeben, wenn bei künftigen Untersuchungen dieser Punkt in der Fragestellung berücksichtigt und unsere Kenntnis über die Biologie der Arten erweitert worden ist.

Wenn nun in dieser Form einer zeitlichen Sonderung die interspezifische Konkurrenz in Erscheinung tritt, so muß zugegeben werden, daß wir uns über die Art dieser Konkurrenz vorerst nur ganz unbestimmte Vorstellungen machen können. Hier leben morphologisch und biologisch sehr verschiedenartige Typen nebeneinander, Arten, deren zum Teil erhebliche Größendifferenz schon bezweifeln läßt, ob sie jemals einander als Beuteobjekt ansehen oder miteinander in Nahrungskonkurrenz treten könnten. Eine zeitliche Sonderung zwischen stark größendifferenten Arten braucht aber nicht deshalb notwendig zu sein, weil sie im adulten Zustand zur Zeit der Fortpflanzung in starke Nahrungs- und Raumkonkurrenz treten und sich dabei gegenseitig auffressen. Es wäre auch denkbar, daß gerade Jugendstadien der größeren Arten den adulten Individuen der kleinen gefährlich werden. Es könnten sich dann nur solche kleinen Arten ohne beträchtliche Ausfälle vermehren, deren Reife- oder Fortpflanzungszeit außerhalb einer bestimmten Entwicklungsperiode großer Arten liegt. Sobald diese juvenilen Stadien der großen Arten dann eine bestimmte Größe erreicht haben, fallen kleine Lebewesen aus ihrem Beuteschema aus.

Außerdem wäre es denkbar, daß die einzelnen Arten aufeinander ganz verschieden ansprechen. Abgesehen davon, daß sich kleinere Arten durch verstecktere Lebensweise dem Zugriff großer entziehen können, bestünde die Möglichkeit, daß manche Arten weit gefährdeter sind, weil sie durch Körperform, Zeichnung und Bewegungsweise bestimmten anderen Arten stärker auffallen oder besser in ihr Beuteschema passen. Dies wäre ein psychologisches Moment, dessen experimentelle Prüfung

wahrscheinlich weitere wertvolle Aufschlüsse bringen dürfte. Als weiteres psychisches Moment käme in Frage, daß eine Art gegenüber einer anderen stark phobisch reagiert und dadurch unter fortgesetzten Störungen und nachhaltiger Beunruhigung sehr zu leiden hat. Doch sind diese und weitere Punkte vorerst reine Mutmaßungen, die aber für die Fragestellung bei weiteren Untersuchungen wichtig genug erscheinen, um hier genannt zu werden (vgl. auch S. 148).

Eine Biozönose ist bekanntlich kein statisches Gefüge, das sich einmal eingestellt hat und so bestehen bleibt, sondern ein dynamisches System, in dem laufend eine Zuwanderung aus angrenzenden Lebensräumen und auch von weiter her auf dem Luftwege (funktionelles Flugvermögen mittels Schwebfäden) sowie eine Abwanderung (Abdrängung) stattfindet. Ob eine zugewanderte Art ansässig werden und wie stark sie sich vermehren kann, hängt neben der ihr adäquaten Konstellation der Standortverhältnisse von der Möglichkeit der *biologischen Einpassung in diese Arten- und Lebensgemeinschaft* ab. Schon länger ist der Begriff der „ökologischen Nische“ im Gebrauch. Diesem ist der Begriff der „zeitlichen Nische“ oder allgemein der „biologischen Nische“ zuzuordnen.

Diese „biologische Nische“ ist nur ein besonderer, durch diesen Ausdruck hervorgehobener Teil des Begriffes der „ökologischen Nische“. Dieser — zunächst nur „niche“ genannt — wurde von ELTON geprägt und (1927, S. 64) als „place in the biotic environment, its relations to food and enemies“ bezeichnet. In dieser Fassung und mit den erläuternden Beispielen entspricht er dem Begriff „Stellenäquivalenz“ von TISCHLER (1951, S. 138). Da ELTONS Begriff aber in der Folgezeit mehr räumlich als ganzheitlich gebraucht wurde, hat ihn GÜNTHER (1950, S. 82) als vieldimensionales Beziehungssystem zwischen den („ökischen“) Umweltgegebenheiten und den besonderen („autozoischen“) Anspruchs- und Verhaltenskombinationen jeder Tierart neu definiert. Die „ökologische Nische“ wird nach GÜNTHER „nicht besetzt, sondern gebildet“ und ist daher wohl als evolutives Ergebnis aufzufassen. In solcher Definition ist die Nischenbildung als Evolutionsfaktor im Sinne von LUDWIG (1950) und GÜNTHER (1949) voll brauchbar. So kann auch als Einnischung aufgefaßt werden, wenn einer Spinnenart durch jahreszeitliche Verschiebung ihrer Fortpflanzungsperiode die Bildung einer besonderen und günstigen Nische gelungen ist, wobei diese Einnischung nicht nur eine Änderung der Entwicklungsgeschwindigkeit, sondern in den meisten Fällen auch eine gleichzeitige Adaptation an alle ökischen Umweltgegebenheiten zu dieser Zeit in abiotischer und biotischer Hinsicht erforderlich gemacht hat. Die Bildung einer solchen Nische aber gelingt nicht sofort und nur unter bestimmten Voraussetzungen. Solange eine Art ihre Nische nicht neu- oder umbilden kann, sind ihr vielerorts Verbreitungsgrenzen gesetzt. Jenseits dieser Grenzen sind die autozoischen Dimensionen mit den ökischen Gegebenheiten nicht zur Deckung zu bringen. Soweit aber diese Dimensionen im Raum und in der Zeit zur Deckung gebracht werden können, muß der ökische Nischenbereich auch besetzbar sein. Insofern sind die hier gebrauchten Teilbegriffe „zeitliche“ und „biologische Nische“ zwar in dem Begriff „ökologische Nische“ eingeschlossen, lenken aber diesen ziemlich abstrakt gewordenen Begriff in konkrete und leichter faßliche Bahnen und haben deshalb sicher eine Berechtigung.

Trotz optimaler Umweltbedingungen abiotischer Natur kann sich eine Art nur dort voll entfalten, wo ihre Fortpflanzungsperiode günstig in eine zeitliche Lücke zwischen der Fortpflanzungszeit der ansässigen Arten und damit in eine biologische Nische fällt.

Welche Bedeutung diese zeitliche Nische hat, zeigen die winterreifen Arten. Es sind nur wenige Formen, denen es dank ihrer besonderen Kälteresistenz möglich ist, sich inmitten der Wintermonate fortzupflanzen. Da auch sie untereinander eine gewisse zeitliche Sonderung zeigen (vgl. TRETZEL 1954, S. 633), haben sie seitens der Spinnenwelt wenig Konkurrenz zu erwarten. Ihrer „Produktion“ steht also nichts im Wege. Tatsächlich finden wir winterreife Arten (*Centromerus silvaticus* und *incilius*, *Macrargus carpenteri*, *Centromerita bicolor*, *Cicurina cicur*, *Typhochraestus digitatus*) unter 41 Assoziationen, in denen eine von ihnen über 3% Abundanz erreicht, 15mal an erster, 9mal an zweiter und 4mal an dritter Stelle.

Wertvolle Aufschlüsse in besprochener Hinsicht dürfte gerade das Studium der Sukzessionen geben. Dazu würde es sich empfehlen, Verbindung mit Forstämtern aufzunehmen, um zu erfahren, welche Kahlschläge in folgenden Jahren geplant sind. In solchen Altholzbeständen wäre dann die bisherige Assoziation mit Fallenhilfe zu registrieren. Eine laufende Kontrolle nach dem Kahlhieb und der Aufforstung ließe verfolgen, welche Arten nach der mikroklimatischen Veränderung ersetzt werden und welche mit zunehmendem Alter des Jungwuchses sich wieder einstellen.

3. Der generische Koeffizient.

Schon bei der Durchsicht der wenigen bisher angeführten Assoziationsbeispiele fällt auf, daß in den einzelnen Biotopen jede Gattung in der Regel mit nur einer Art vertreten ist. Diese Erscheinung der intragenerischen Isolation ist, wie eingangs schon erwähnt, auch bei anderen Tiergruppen aufgefallen und von verschiedenen Autoren, vor allem MONARD (1920), zum Gesetz erhoben worden. Gerade diese im Tierreich also allgemein verbreitete Erscheinung zeugt von einer sehr gesetzmäßigen Sonderung nächstverwandter Arten, die letztlich als Folgeerscheinung intraspezifischer Konkurrenz anzusehen ist. Freilich darf aus dieser Feststellung einer intragenerischen Isolation nicht ohne weiteres gefolgert werden, daß die gesonderten Arten heute noch miteinander konkurrieren würden. Die Konkurrenz gab primären Anlaß zur Ausbildung verschiedenartiger ökologischer Charaktere. Nach Durchführung einer vollständigen Sonderung aber war die unmittelbare Konkurrenz aufgehoben. Sie kann sich nur bei unvollständiger Sonderung noch bemerkbar machen. In diesem Sinne nimmt auch LINDROTH (1949) zu den Folgerungen ELTONs Stellung: „Wenn die Auffassung ELTONs richtig ist, daß nahe verwandte Formen meistens gesondert leben, braucht dies nicht zu bedeuten, daß sie miteinander konkurrieren,

sondern daß die ökologische Differenz eine primäre Voraussetzung ihrer Entstehung als physiologisch getrennte Einheit dargestellt hat.“ Jedoch scheint LINDROTH nicht weiter zu überlegen, warum es zu einer so gesetzmäßigen ökologischen Differenz gerade zwischen nahverwandten Arten gekommen ist. Im übrigen führt ELTON diese Erscheinung auch nicht ausschließlich auf eine bestehende Konkurrenz zurück, wie das Zitat S. 52 beweist.

Allgemeiner zahlenmäßiger Ausdruck der intragenerischen Isolation ist der generische Koeffizient (JACCARD 1902), der das Verhältnis zwischen Arten- und Gattungszahl eines Biotops angibt. Dieser Koeffizient liegt bei terrestrischen Jahresassoziationen im Durchschnitt bei 69,0%. Diese Zahl ist nicht so hoch, daß sie von der vorgenannten Gesetzmäßigkeit voll überzeugen könnte. Nun kann aber bei Spinnen an Stelle der räumlichen Sonderung auch die zeitliche treten. Zerlegen wir deshalb die gleichen Jahresassoziationen, aus denen der genannte Wert berechnet wurde, in ihre verschiedenen Aspekte, so ergibt sich für die jahreszeitliche Assoziation, bei der auch die zeitliche Sonderung bis zu einem gewissen Grade zum Ausdruck kommt, der Mittelwert von 84%, der besagt, daß von jeweils 10 Arten 8—9 verschiedenen Gattungen (im Sinne der älteren Systematik!) entstammen. Dieser Wert spricht überzeugend für diese Gesetzmäßigkeit. Er deckt sich auffallenderweise mit dem generischen Koeffizienten, der sich aus der Addition aller von ELTON (1946) untersuchten Tiergemeinschaften ergibt, fast völlig: dieser beträgt 83,3%.

IV. Spezielle Feststellungen intragenerischer Isolation in Form einer räumlichen oder zeitlichen Sonderung.

Die Feststellung der Gesetzmäßigkeit einer intragenerischen Isolation bei Spinnen wäre nach Ansicht des Verfassers ohne die Fallenfangmethode, die nicht nur eine Präzisierung der autökologischen Diagnosen, sondern vor allem auch eine mit solcher Genauigkeit bisher unmögliche Festlegung der Fortpflanzungszeit eurychrone Arten erlaubt hat, in diesem Umfange nicht denkbar gewesen. Mit dieser Untersuchungsmethode konnte aber nur die terrestrische Assoziation der Spinnen erfaßt werden, die rund 50% der im Untersuchungsgebiet festgestellten Arten beträgt. Aus diesen methodischen Gründen war ursprünglich beabsichtigt, vorliegende Untersuchung im wesentlichen auf die Bodenfauna zu beschränken, da anzunehmen war, daß die Bewohner höherer Strata die besprochene Gesetzmäßigkeit nicht so deutlich zu erkennen geben. Diese, in der Mehrzahl sessile, netzbauende Arten sind nur mit den herkömmlichen, an subjektiven und mechanischen Fehlerquellen reichen Sammelmethoden mit der Hand, dem Kescher und Klopffapparat erfaßbar. Dabei kann die natürliche Aktivität der Tiere, die für die Feststellung der Kopulationszeit so wichtig ist, nicht registriert werden. Dieser methodische Nachteil wird zwar teilweise dadurch kompensiert, daß die Formen höherer Fangschichten überwiegend stenochron sind und das kurzfristige Auftreten reifer ♂♂ die Fortpflanzungszeit anzeigt. Doch ist die Fortpflanzungsperiode der Spinnen über dem Boden, die dem Witterungseinfluß stärker ausgesetzt

sind als die Bodenformen, hauptsächlich auf die Frühjahrsmonate zusammengedrängt und um den Mai gruppiert. Und gerade wegen dieser Konzentration wäre zur Feststellung einer zeitlichen Sonderung die Ermittlung des Höhepunktes der Fortpflanzungstätigkeit besonders notwendig. Die hierzu erforderlichen umfangreichen quantitativen und möglichst gleichzeitig in verschiedenartigen Biotopen durchgeführten Fänge aber sind vom Sammler in der kurzen Periode, in der die Fortpflanzung zusammengedrängt ist, in der Regel nur lückenhaft durchführbar. Außerdem sprechen viele Arten höherer Strata nicht in dem Grade und mit der Deutlichkeit wie die Bodenbewohner auf mikroklimatische Faktoren, insbesondere Feuchtigkeit, an, wodurch die Analyse ihrer Standortansprüche und der Nachweis einer ökologischen Sonderung erschwert wird. Bei netzbauenden Formen machen sich auch gewisse, zusätzliche Ansprüche bezüglich der Anbringungsmöglichkeit ihrer Netze bemerkbar. Schließlich haben diese Arten auch durch den Aufenthaltswechsel innerhalb der höheren Strata bei starker Besiedlungsdichte die Möglichkeit einer gewissen räumlichen Sonderung.

Trotz dieser Bedenken hat sich aber bei der Prüfung dieser Assoziationen gezeigt, daß auch ihre Vertreter, soweit sie ökologisch und biologisch besser bekannt sind, diese Gesetzmäßigkeit weit deutlicher offenbaren als aus besagten Gründen erwartet werden konnte und sie damit erst zu einem für Spinnen allgemeingültigen biologischen Gesetz machen. Soweit mein statistisches Material zur genauen Beurteilung der Fortpflanzungszeit oder Standortansprüche bei Spinnen höherer Strata nicht ausgereicht hat, wurden Literaturangaben mit einbezogen. Unter allen Autoren aber ließen sich in ökologischer und biologischer Hinsicht für diesen Zweck in der Regel nur die zuverlässigen, auf eingehende eigene Beobachtungen gestützten Angaben von WIEHLE verwerten. Von diesen verdienen besonders die bei Araneiden, Tetragnathiden und Theridiiden bis auf das Monatsdrittel genauen Angaben über die Reifezeit hervorgehoben zu werden. Diese Befunde, die durch meine eigenen Beobachtungen nur bestätigt, keineswegs verbessert werden konnten, erwiesen sich zur statistischen Sicherung als äußerst wertvoll. Bei einer Reihe von Arten aus den von WIEHLE bearbeiteten Familien habe ich mich sogar bewußt auf Zitate dieses Autors beschränkt, um dadurch die festgestellten Beziehungen zu objektivieren.

1. Die terrestrische Assoziation.

Wenn hier nur ein kleiner Teil der gefundenen terrestrischen Arten zur Prüfung der intragenerischen Isolation herangezogen wird, so handelt es sich dabei nicht um eine willkürliche Auswahl von Arten, die zufällig derartige Sonderungserscheinungen zeigen, sondern grundsätzlich um alle Arten, die entsprechend meiner Veröffentlichung 1952 im Gebiet in höherer Abundanz festgestellt wurden und sowohl ihren ökologischen Charakter als auch ihre Reifezeit analysieren ließen. Nur diejenigen Arten, die als einzige Vertreter einer Gattung gefunden wurden, mußten in Ermangelung nächstverwandter Arten, zu denen sie hätten in Beziehung gebracht werden können, unberücksichtigt bleiben. Im übrigen sind also alle diejenigen Arten in Rechnung gestellt, die ins Gewicht fallen und der terrestrischen Arachnofauna das Gepräge geben. Eine Vernachlässigung der restlichen, sehr individuenschwachen und zum Teil wohl auf Verbreitungseinseln beschränkten Arten aber erfolgte nicht allein wegen der statistischen Unmöglichkeit einer eindeutigen Feststellung ihres Vorzugsbiotops und ihrer Fortpflanzungszeit, sondern auch in der Annahme, daß sie als „Konkurrenten“ der stark abundanten Arten nicht ins Gewicht fallen. Sie können als Restnutzer betrachtet werden, denen vielleicht das ganze Gebiet keine optimalen Standortverhältnisse

bietet. Auch erlaubt die bei allen häufigeren Arten nachweisbare intragenerische Isolation den Rückschluß, daß diese restlichen Arten hier zumindest keine biologische Nische finden.

Tetragnathidae¹.

Gattung Pachygnatha. Alle 3 Arten (*clerckii*, *degeeri* und *listeri*), deren ♂♂ eurychron sind, haben gleiche Kopulationszeit, die ziemlich gleichmäßig über April und Mai verteilt ist (nur bei *listeri* ist der April betont). *Degeeri* sondert sich durch Photophilie, Euryvalenz gegenüber Feuchtigkeit und gleichmäßige Verteilung über Boden und Krautschicht von den beiden vorzugsweise terrestrischen, hygrophilen und ombrophilen (bzw. euryphoten) Schwesterarten ab. Die euryphote *clerckii* und die ombrophile *listeri* suchen feuchtes Gebiet und sind in Erlenbrüchen regelmäßig assoziiert. Wenn auch der Verbreitungsschwerpunkt von *clerckii* in ausgesprochen nassem, von *listeri* in nur feuchtem Gebiet liegt, so überschneiden sich ihre Verbreitungsgebiete doch so stark, daß hier gleich eine Ausnahme der Regel einer räumlichen oder zeitlichen Sonderung vorliegt. Doch gilt für dieses Ausnahmepaar die S. 119 besprochene Sonderregel.

Theridiidae.

Gattung Euryopsis. Von den 3 terrestrischen Arten dieser Gattung wurden im Untersuchungsgebiet vom Verfasser nur *flavomaculata*, von WIEHLE aber auch *laeta* und *quinqueguttata* gefunden. *Flavomaculata* zeigt sich hylobiont-hemihygrobiont. Sie bleibt im Waldbereich und sucht Gebiete mittlerer Feuchtigkeit. Die Distanzierung der beiden anderen Arten läßt sich aus WIEHLES Angaben (1937, S. 131—135) entnehmen: *laeta* und *quinqueguttata* sind isotop („trockene, sandige Stellen“), haben aber verschiedene Höhepunkte der Fortpflanzungszeit (*quinqueguttata* von Mai bis Juli, *laeta* im Juli).

Micryphantidae.

Gattung Tapinocyba. Die beiden häufigeren, mit ungefähr gleicher, um 10% liegender höchster Abundanz auftretenden eurychronen Arten *antepenultima* und *pallens* unterscheiden sich in ihren Standortansprüchen dadurch, daß erstere stenovalent xerobiont, letztere mit erweiterter Valenz hemihygrophil ist. Außerdem liegt die Spitze der Fortpflanzungszeit bei *antepenultima* um 1 Monat früher als bei *pallens*.

Gattung Dicymbium. Beide Arten (*nigrum* und *tibiale*) zeigen Sondernung III. Grades und schließen sich also in ihrem Vorkommen gegenseitig aus: *nigrum* ist eine Wiesen-, *tibiale* eine Waldform. Beide Arten sind diplochron mit annähernd gleichen Perioden. Das mit Fallen

¹ Familien und Gattungen nach REIMOSER (1919) systematisch geordnet.

gefangene Material reicht allerdings nicht aus, um die noch zusätzlich angedeutete reziproke Lage der Primärperioden sicher erkennen zu lassen.

Gattung Walckenaera. Der ökologische Charakter der stenochron erscheinenden Arten *antica*, *melanocephala*, *mitrata*, *nudipalpis*, *vigilar* mit Kopulationszeit zwischen April und Juli war wegen Materialmangels nicht deutlicher zu analysieren. Die 4 häufigeren Arten, die alle in bewaldetem Gebiet leben, zerfallen in eine hemihygrophile und in eine hygrophile Gruppe. Die hemihygrophilen Arten *acuminata* und *cucullata* sind zeitlich gesondert: die eurychrone *acuminata* hat den Höhepunkt ihrer Fortpflanzungsperiode im März, die diplochrone *cucullata* hat ihre Primärperiode im April. Die hygrophilen Arten *cuspidata* und *obtusa* hingegen erscheinen weder ökologisch noch zeitlich genügend gesondert. Beide Arten begegnen sich in feuchtem Biotop. Sie haben zwar eine sehr verschiedene Breite der Fortpflanzungszeit, doch fallen ihre Höhepunkte im April zusammen. Die hemiombrobionthygrobionte *cuspidata* zeigt gegenüber der hylobiont-hygrophilen *obtusa* viel geringere Reaktionsbreite. Sie ist außerdem nur stellenweise im Gebiet zu finden, erreicht aber dort bis zu 10% Abundanz, während *obtusa* trotz weiter Verbreitung und regelmäßigen Erscheinens in allen Bruchwäldern (in denen *cuspidata* fehlt) überall unter 4% bleibt. Obwohl das stellenweise Vorkommen der einen und das schwache Auftreten der anderen Art annehmen lassen, daß beide im hiesigen Gebiet genügend Ausweichmöglichkeiten finden, müßten diese beiden Arten doch als Ausnahmepaar gewertet werden. Sie würden sich auch leicht in die Reihe der Ausnahmepaare einfügen, da sie die Punkte 1 und 3 der für die übrigen Ausnahmepaare geltenden Sonderregeln (vgl. S. 119) zeigen. Doch ist es hier aus einem besonderen systematischen Grunde fraglich, ob diese Bewertung richtig wäre. Es zeigen nämlich auch *cucullata* und *obtusa* eine auffallend starke Überlappung ihrer Verbreitungsgebiete (vg. TRETZEL 1952, S. 75: *W. obtusa*). Dazu ist bemerkenswert, daß keine Micryphantidengattung der älteren Systematik, der hier gefolgt wird, mit so vielen Arten im Untersuchungsgebiet vertreten ist wie diese. Von den 19 bisher in Deutschland (18 in Süddeutschland) gefundenen *Walckenaera*-Arten wurden 13 im Gebiet von Erlangen nachgewiesen. Diese 19 Arten werden aber heute nach der allgemein anerkannten neueren Systematik (SIMON 1926, ROEWER 1942) in 6 verschiedene Gattungen aufgeteilt. Danach gehört jede der hier besprochenen Arten einer anderen Gattung an: *acuminata* zur Gattung *Walckenaera*, *cucullata* zu *Wideria*, *cuspidata* zu *Cornicularia* und *obtusa* zu *Trachynella*. Die alte Gattung *Walckenaera* war zweifellos zu weit gefaßt. In Anbetracht dieser systematischen Frage empfiehlt es sich, hier ausnahmsweise von dem sonst konsequenten Anschluß an das ältere System abzuweichen

und diesen Fall einer ungenügenden Sonderung nicht weiter als Ausnahme zu werten.

Gattung Stylothorax. Die beiden Arten *agrestis* und *retusa*, die isotop und isochron sind, lassen nach der Fallenfangstatistik eine starke Konkurrenz vermuten. Überall dort, wo die eine Art dominiert, lebt die andere in verschwindender Abundanz oder fehlt, ohne daß diese Korrelation aus differenten Standortansprüchen zu erklären wäre. Auf diesen Ausnahmefall wird S. 121 noch eingegangen werden.

Gattung Erigone. Von den 3 *Erigone*-Arten sondert sich *graminicola* durch andere Standortansprüche und durch Besiedlung höherer Strata von den beiden anderen Spezies ab. *Atra* und *dentipalpis* aber haben — hier eine weitere, eindrucksvolle Ausnahme der Regel — gleichen Verbreitungsschwerpunkt, der auf feuchten Wiesen liegt, und gleiche, über 2—3 Monate greifende Fortpflanzungszeit innerhalb ihrer eurychronen Reifeperiode. Dies muß zu starker Konkurrenz Anlaß geben, deren Ausdruck darin gesehen werden darf, daß die weit spärlicher vertretene *dentipalpis* (15,9% höchster Abundanz gegenüber 46,4% bei *atra*) aus optimalem, feuchtem Biotop in trockenere Wiesen und sogar auf Felder und Wegränder abgedrängt wird. Beide Arten besteigen auch die Krautschicht und folgen damit der S. 119 besprochenen Sonderregel.

Gattung Porrhomma. *P. pygmaeum* ist als Freilandsform von den Höhlenbewohnern *egeria*, *proserpina* und *rosenhaueri* ökologisch gesondert. Die Troglobionten zeigen eine strenge räumliche Sonderung, die so weit geht, daß in den Höhlen des Fränkischen Jura das Vorkommen einer Art das der anderen ausschließt. Die Frage, ob diese Verteilung auf verschiedene Temperaturpräferenda oder auf Konkurrenz zurückzuführen ist, wird S. 123 noch diskutiert werden.

Gattung Macrargus. Die beiden hylobionten Arten *carpenteri*¹ und *rufus*, die hier zahlreicher vorkommen, zeigen verschiedene Ansprüche gegenüber Bodenfeuchtigkeit: *carpenteri* ist xerophil, *rufus* hemihygrophil. Da die Ausbreitung von *rufus* mehr nach trocken als nach feucht tendiert, werden sich beide Arten vor allem in trockenem Gebiet berühren. Daher wohl ist außer der räumlichen Sonderung noch eine gewisse zeitliche eingetreten, indem der Höhepunkt der Fortpflanzungszeit bei *carpenteri* in den Februar, bei *rufus* aber in den März gelegt ist (vgl. auch S. 130).

Die restlichen Micryphantiden (summarisch). Aus der artenreichsten Familie *Micryphantidae* konnten nur wenige Gattungen herausgegriffen und auf die intragenerische Isolation hin geprüft werden; denn die Systematik gliedert gerade diese Familie in so viele artenarme Gattungen

¹ Vom Verfasser 1952 irrtümlich als *Macrargus adipatus* bestimmt. Die Berichtigung der Diagnose verdanke ich Herrn Dr. H. WIEHLE.

auf, daß die Mehrzahl dieser Gattungen im Untersuchungsgebiet nur noch mit *einer* Art regelmäßig und mit nennenswerter Abundanz vertreten ist. Wollte man nun den Versuch machen, Gattungen zusammenzufassen, die man für nächstverwandt hält, so liefe man vielleicht Gefahr, mit diesem höchst subjektiven Vorgehen der Gültigkeit des Gesetzes einer intragenerischen Isolation nachzuhelfen. Geht man statt dessen nicht von der systematischen, sondern ökologischen Gruppierung aus und faßt alle jene Micryphantidenarten zusammen, die sich auf Waldgebiete beschränken und dort entweder über Bestände verschieden starker Insolation gleichmäßig verbreitet sind (hylobiont) oder lichte Bestockung und Bestandsränder bevorzugen (hemionbrophil) und terrestrisch in Gebieten mittlerer Bodenfeuchtigkeit (hemihygrophil) leben (das sind *Pelecopsis thoracatus*, *Erigonella latifrons*, *Savignia picina*, *Minyriolus pusillus*, *Tapinocyba pallens*, *Micrargus herbigradus*, *Walckenaera acuminata*, *Walckenaera cucullata*, *Gongyliidiellum latebriculum*, *Maso sundevalli*, *Macrargus rufus*, *Micronetaria viaria*) und vergleicht die Fortpflanzungszeit dieser 12 Arten, so ergibt sich folgende Verteilung:

Monate:	III	IV	V	VI	VII	...	X	XI
Zahl der Arten, deren Kopulationszeit in diese Monate fällt:	2	2	5	3	3		1	2

(Dabei ist in Rechnung gestellt, daß sich die Kopulationszeit einzelner Arten ziemlich gleichmäßig über 2 Monate erstreckt.)

Dieses Ergebnis spricht nicht sehr überzeugend für eine zeitliche Sonderung, deutet diese aber immerhin an. Nun ist zu bedenken, daß die genannten 12 Arten, die übrigens im ganzen Untersuchungsgebiet sehr unterschiedliche, zwischen 1,8 und 17,5% schwankende Höchstwerte ihrer Abundanz erreichen und daher nicht alle gleich stark miteinander konkurrieren werden, in keinem Biotop dichtgedrängt nebeneinander vorkommen. Die Gliederung der Spinnenfauna in bestimmte ökologische Typen, wie ich sie 1952 durchgeführt habe, stellt naturgemäß eine ziemlich grobe Gliederung dar, die nicht ausschließt, daß etwa unter den Bewohnern mittelfeuchter Gebiete, die ja ein großes, weiträumiges Areal umfassen, nötigenfalls auch eine genügende räumliche Sonderung stattfinden kann, ohne daß diese, die vielleicht nur durch geringe Abundanzschwankungen angezeigt ist, gleich einen grundlegend andersartigen ökologischen Charakter dieser Arten voraussetzt und zu erkennen gibt.

Nun heben sich unter der Gruppe der hemihygrophilen Spinnen des Waldes deutlich 3 Untergruppen ab (vgl. TRETZEL 1952, S. 123).

a) Hemihygrophile Arten, die Laubstreu auf Lehmboden bevorzugen und deren Ausbreitung in feuchteres Gebiet neigt. Zu dieser Untergruppe gehören folgende Micryphantiden mit folgender höchster Abundanz:

Micrargus herbigradus 10,7% *Micronetaria viaria* 12,4%

b) Hemihygrophile Formen, die Moos auf Sandboden bevorzugen und eine Ausbreitungstendenz nach trocken zeigen:

Pelecopsis thoracatus 12,8% *Walckenaera cucullata* 11,0%
Tapinocyba pallens 8,8% *Gongylidiellum latebricolum* 3,6%

c) Typisch hemihygrophile Micryphantiden, die über Gebiete mittlerer Feuchtigkeit gleichmäßig verbreitet sind und auf Lehm Boden in Laubstreu und Moos, auf Sandboden hauptsächlich in Moos leben:

Erigonella latifrons 15,3% *Macrargus rufus* 17,5%
Maso sundevalli 2,5%

Die wenigen Arten der einzelnen ökologischen Untergruppen geben die Gewähr eines sehr gleichartigen ökologischen Charakters. Sie sind in den entsprechenden Biotopen in der Regel assoziiert und wenn überhaupt das Bestreben einer Distanzierung auch zwischen Vertretern verschiedener Gattungen vorliegt, so müßte es sich bei diesen Arten zeigen. Tatsächlich macht sich eine zeitliche Sonderung zwischen den Vertretern der 3 Untergruppen bemerkbar.

Von den Arten der *Gruppe a*, die beide diplochron sind, hat die eine im Mai, die andere im Juni-Juli ihre Primärperiode, nur die unbedeutende, praktisch nur noch angedeutete Sekundärperiode haben beide im November.

Bei den Vertretern der *Gruppe b* differieren die Höhepunkte ihrer mehr oder minder eurychronen Periode jeweils um 1 Monat, ihre zeitliche Sonderung ist sehr deutlich: *Walckenaera cucullata* hat den Höhepunkt ihrer Fortpflanzungszeit im April (Sekundärperiode dieser diplochronen Art im Oktober), *Tapinocyba pallens* im Mai, *Pelecopsis thoracatus* im Juni, *Gongylidiellum latebricolum* im Juli.

Entsprechend ist auch bei den Arten der *Gruppe c* die Kopulationszeit verschoben: *Macrargus rufus* hat den Höhepunkt im März, *Erigonella latifrons* im April-Mai, *Maso sundevalli* im Juni-Juli.

Wir sehen also, daß bei sehr gleichartigem ökologischen Charakter und verwandter biologischer Artung auch zwischen Vertretern verschiedener Gattungen eine zeitliche Sonderung (intergenerische Isolation) durchgeführt ist, die bei diesen Zwergspinnen wohl deshalb besonders ausgeprägt ist, weil sie biologisch ähnlich sind und unter den für sie in Frage kommenden kleinsten Beutetieren wahrscheinlich ziemlich gleichartige Formen zu sich nehmen.

Linyphiidae.

Gattung Bathyphantes. Von den 4 *Bathyphantes*-Arten sondert sich *dorsalis* durch andersartige Standortansprüche und Besiedlung eines meist höheren Stratum weitgehend ab. Doch deckt sich der auf Erlenbrüchen liegende Verbreitungsschwerpunkt der übrigen Arten *concolor*,

gracilis und *nigrinus*. *Concolor* dominiert mit 17,0% höchster Abundanz gegenüber den 4,2 und 6,2% der Schwesterarten und konzentriert sich fast stenotop auf die Bruchwälder. *Gracilis* zeigt gegenüber Feuchtigkeit eine größere Reaktionsbreite und hat als diplochrone Art die Hauptperiode im Februar, also 4 Monate früher als die anderen Arten. Erst die Sekundärperiode von *gracilis* fällt mit dem Höhepunkt der Kopulationszeit von *concolor* und *nigrinus* zusammen. *Concolor* und *nigrinus* aber, beide eurychrone Arten, haben neben ihren gleichartigen Standortansprüchen auch gleiche Reifezeit. Auch dieses Artenpaar bildet also eine Ausnahme, für das die Sonderregel (S. 119) gilt.

Gattung Lepthyphantes. Von den 4 stärker und mit annähernd gleicher Abundanz um 11% vertretenen Arten sind die eurychronen *cristatus* und *mansuetus* isochron, unterscheiden sich aber durch verschiedene Feuchtigkeitsansprüche (ersterer ist hygrophil, letzterer hemihygrophil). Die ebenfalls eurychronen Arten *pallidus* und *tenebricola*, deren Fortpflanzungszeit später liegt als bei den vorgenannten Arten, unterscheiden sich ebenfalls durch verschiedenartige Feuchtigkeitsansprüche; außerdem erstreckt sich die Fortpflanzungsperiode bei *pallidus* von April bis Juni, bei *tenebricola* von Juni bis August.

Hahniidae.

Gattung Hahnia. Aus dieser Gattung wurde nur *pusilla* so zahlreich beobachtet, daß ihre Standortansprüche analysiert werden konnten. Diese hylobiont-hemihygrobiote Art hat im April und (betont) im Mai Fortpflanzungszeit. Sehr ähnlichen ökologischen Charakter scheint *bressica* (= *Hahnia helveola* SIMON) zu haben. Ergänzend zu meiner letzten Arbeit (1954, S. 667, Nr. 258) sei mitgeteilt, daß inzwischen 11 *bressica*-♂♂ von 4 verschiedenen Standorten zweifelsfrei determiniert werden konnten, die alle zwischen Mitte November und Mitte Dezember in Fallen gegangen sind. Die Fortpflanzungszeit dieser Art fällt also in den Winter und es ist wahrscheinlich deshalb nicht verwunderlich, wenn DAHL unter etwa 70 von Mai bis November gefangenen ♀♀ nur 1 junges ♂ im August erbeutet hat (M. DAHL 1937, S. 107). Auch LOCKET und MILLIDGE (1953, S. 31) fanden Adulti im Herbst und Winter. *Pusilla* und *bressica* sind also bei noch fraglicher Isotopie heterochron. *Nava* ist mit *pusilla* ungefähr isochron, ihre Standortansprüche sind aber noch unklar.

Agelenidae.

Gattungen Coelotes, Cicurina, Histopona, Cybaeus und Cryphoea. Von den ausgesprochen terrestrischen Ageleniden kommen hier nur *Coelotes atropos* und *inermis*, *Cicurina cicur* und *Histopona torpida* (bei REIMOSER noch unter *Tegenaria*) in Betracht. *Cybaeus angustiarum*

als weitere Bodenform zeigt nur ganz lokales Vorkommen und *Cryphoea silvicola* ist eine viel zu kleine Art, als daß sie mit anderen Familienvertretern in Konkurrenz treten könnte. *Coelotes atropos*¹ und *inermis* besitzen gleichen Verbreitungsschwerpunkt in den Waldungen besserer Bonität auf Lehmboden, doch breitet sich *atropos* weiter aus und geht sogar auf Sandboden. Beide großen, starken Arten leben also in gleichem Biotop dicht nebeneinander, sind aber zeitlich gesondert, indem die Primärperioden ihrer diplochronen Reife reziprok liegen (vgl. S. 131). Der ökologische Charakter von *Cicurina cicur* gleicht dem der beiden größeren *Coelotes*-Arten, denen sie auch vielfach (sogar unter den gleichen Steinen) assoziiert ist. Ihre Fortpflanzungszeit aber fällt in die Wintermonate November-Dezember und ist damit von der Fortpflanzungsperiode aller übrigen Ageleniden weit entfernt. *Histoipona torpida* hat (abgesehen davon, daß sie sich durch ausgesprochene Hygrophilie von den 3 anderen, hemigrophilen Formen unterscheidet) die Spitze ihrer Kopulationszeit in den Juli gelegt, also gerade in den Monat, der zwischen den Primärperioden der beiden *Coelotes*-Arten liegt. Die Kopulationszeit von *Cybaeus angustiarum* deckt sich mit der von *Coelotes atropos*, dem er auch stellenweise assoziiert ist. Er zeigt aber (deshalb?) nur individuenschwaches, unregelmäßiges und auf Verbreitungssinseln beschränktes Auftreten. Diese Übersicht verrät, daß auch unter den Ageleniden über die Gattung hinaus die Tendenz zu einer intergenerischen Isolation besteht.

Lycosidae.

Gattung Trochosa. Die Arten *ruricola* und *spinipalpis* leben stenotop auf Wiesen. Erstere aber hat ihren Verbreitungsschwerpunkt auf Trockenwiesen, letztere auf Naßwiesen. In Gebieten mittlerer Feuchtigkeit überschneidet sich ihre Ausbreitung und kommen sie in annähernd gleicher Abundanz nebeneinander vor. Doch differiert auch ihre Kopulationszeit: beide Arten sind eurychron bzw. diplochron, *ruricola* hat ihr Maximum im Juni, *spinipalpis* über April und Mai verteilt (Sekundärperiode im September-Oktober). Umgekehrt decken sich die beiden gleichsinnig liegenden Perioden der (wenigstens ursprünglich) diplochronen Arten *terricola* und *spinipalpis*, doch lassen beide den Sondereungsgrad III feststellen: *terricola* ist im Gegensatz zu den vorgenannten photobionten Freilandformen hylobiont und kommt nur auf bestocktem Gelände vor (vgl. weiter S. 144).

Gattung Pirata *Hygrophilus* und *latitans*, die beiden Arten, deren Fortpflanzungszeit sich weitgehend deckt, unterscheiden sich in ihren Standortansprüchen dadurch grundlegend, daß *hygrophilus* nur auf

¹ Im Sinne von M. DAHL (1931), die *atropos* und *terrestris* (WIDER) als synonym auffaßt. Alle hier gefangenen Exemplare entsprechen *Amaurobius terrestris* (WIDER) nach LOCKET und MILLIDGE (1953, S. 20, Abb. 15, B, D).

bestocktem, *latitans* auf freiem Gelände vorkommt. Die dritte Art des Gebietes, *piraticus*, ist im Gegensatz zu den beiden vorgenannten hygrobionten Arten hygrobiont und stellt eine charakteristische Form des Anspülichts dar.

Gattung Tarentula. Gleichen ökologischen Charakter haben *cuneata* und *pulverulenta*. Beide sind photophil-hemihygrophil und erreichen auf (den gleichen) Wiesen geringeren Feuchtigkeitsgrades mit 21,6 und 21,1% auch fast gleiche Abundanzwerte. Die Fortpflanzungszeit der beiden Arten überschneidet sich wie vielfach bei Wiesenformen (vgl. S. 92, Typ 4b), ihre Höhepunkte aber differieren deutlich um einen Monat: bei der stenochronen *cuneata* liegt das Maximum im April, bei der eurychronen *pulverulenta* im Mai. Von diesen beiden Arten sondern sich *aculeata* und *fabrilis* durch andersartigen ökologischen Charakter (vor allem Xerophilie) ab. Sie sind auch untereinander ökologisch weitgehend gesondert, da die erstere hemiombrophil-xerophil, die letztere photophil-xerobiont reagiert. Außerdem haben sie noch verschiedene Fortpflanzungszeiten, die bei *aculeata* im Mai-Juni, bei *fabrilis* im September-Oktober (Sekundärperiode im April) liegen.

Gattung Lycosa (mit *Xerolycosa nemoralis*). Von den mit höherer Abundanz (über 10%) im Gebiet lebenden *Lycosa*-Arten (*Xerolycosa nemoralis*, *Lycosa bifasciata*, *chelata*, *pullata*, *saccata*, *tarsalis*) sondert sich die auf den Waldbereich beschränkte *chelata* von den übrigen Freilandformen ab. Unter diesen bilden *saccata*, *pullata* und *tarsalis* in genannter Reihenfolge eine Artenkette von der Ufervegetation der Gewässer über Sumpfwiesen in trockenere Wiesen. Ihre durch starke Überlappung unvollständige ökologische Sonderung wird durch zeitliche Sonderung ergänzt (s. Abb. 18 und Text S. 129). Unter den übrigen, trockenere Böden suchenden Arten decken sich die Standortansprüche nur bei *Xerolycosa nemoralis* und *Lycosa bifasciata* weitgehend. Abgesehen davon, daß es sich bei diesen nur um biologisch verwandte, systematisch aber fernerstehende Formen handelt, liegen ihre Fortpflanzungszeiten um 1 Monat auseinander.

Thomisidae.

Gattung Oxyptila. *Oxyptila* ist die einzige Gattung der *Thomisidae* s. lat., deren Vertreter ausschließlich oder doch bevorzugt terrestrisch leben und deren Reifezeit mittels Fallen festgestellt werden konnte. Die 3 häufigeren Arten *brevipes*, *simplex* und *trux* sind ungefähr isochron, unterscheiden sich aber in ihren Standortansprüchen soweit, daß eine räumliche Sonderung gewährleistet erscheint: *trux* (ombrophil-hygrophil) lebt im Bruchwald, *simplex* (photobiont-hygrophil) ist eine Wiesenform und *brevipes* (hemiombrophil-hygrophil) sucht feuchte Bestandsränder und Gewässernähe.

Gnaphosidae.

Gattung Drassodes (Haplodrassus). Nur 2 Arten sind quantitativ stärker vertreten: *Drassodes (Haplodrassus) signifer* und *umbratilis*. Beide sind isochron. Eine räumliche Sonderung ist im Untersuchungsgebiet praktisch durchgeführt, wenngleich der ökologische Charakter von *umbratilis*, der dem von *signifer* zu entsprechen scheint, noch fraglich ist: *signifer* bleibt auf die Sandböden der Ebene beschränkt und bevorzugt Moos in lichtem Föhrenjungwuchs; *umbratilis* lebt in gleichartigem Biotop, zeigt sich aber nur stellenweise auf lehmigem Boden in Hanglage.

Gattung Zelotes. Die Standortansprüche der hemiombrophil-hemihygrophilen Arten *latreillei* und *petrensis* decken sich im Schwerpunkt ihrer Verbreitung vollständig. Durch reziproke Lage ihrer Primärperoiden aber sind diese diplochronen Spezies zeitlich gesondert (vgl. S. 131). Der ombrophil-hemihygrophile *subterraneus* sondert sich von den vorhergehenden und nachfolgenden Arten durch Bevorzugung des Bestandsinneren ökologisch ab. Diesen genannten Formen stehen die photophil-xerobionten Arten *electus* und *serotinus* gegenüber, die beide isotop sind. Über die zu erwartende zeitliche Sonderung können keine Angaben gemacht werden, da von *serotinus* bisher nur ♀♀ gefangen wurden (die Kopulationszeit von *electus* ist im Mai). Eine Differenz der Fortpflanzungszeit kann aus den Angaben von LOCKET und MILLIDGE (1951, S. 112 und 114) geschlossen werden, wonach *electus* im Frühling und Sommer, *serotinus* im Sommer adult ist. Der ökologische Charakter von *pusillus* ist noch unklar. Er ist im Untersuchungsgebiet verbreitet und lebt in verschiedenartigen Biotopen, läßt aber aus Mangel an Individuenkonzentration die Feststellung eines Vorzugsbiotops nicht zu. Seine Kopulationszeit liegt im Mai. Auch LOHMANDER (1942, S. 153) bemerkt: „*Z. pusillus* scheint in Südschweden sehr verbreitet zu sein, wurde aber stets vereinzelt angetroffen. Die Fundortsverhältnisse wechseln stark, und die Art muß in standortsökologischer Hinsicht als ziemlich eurytop bezeichnet werden. Sie kommt sowohl in etwas feuchteren als auch in ausgesprochen trockenen Biotopen vor. . .“ Es ist zu vermuten, daß diese Art in weiten Teilen ihres Verbreitungsgebietes kein absolutes Optimum findet und an ihrem unregelmäßigen Auftreten Konkurrenzfaktoren beteiligt sind.

Clubionidae.

Gattung Clubiona. Die 3 Arten *lutescens*, *phragmitis* und *subsultans*, die wenigstens teilweise terrestrisch leben und zugleich die häufigsten Arten des Gebietes sind, lassen eine strenge ökologische Sonderung feststellen: von den hygrobionten Arten ist *lutescens* ombrophil (Bruchwald), *phragmitis* photophil (Anspüllicht und Ufervegetation); die xerophile *subsultans* hingegen lebt bevorzugt unter Baumrinde in Kiefernbeständen.

Gattung Agroeca. Die Arten *brunnea* und *proxima* haben im Prinzip den gleichen ökologischen Charakter, sind aber durch reziproke Lage der Primärperioden ihrer diplochronen Reifezeit zeitlich gesondert, worauf auf S. 131 noch eingegangen werden wird.

Gattung Phrurolithus. Diese Gattung ist praktisch nur durch *festivus* vertreten, da der mit diesem offenbar isochrone *minimus* nur an 2 Stellen in 3 Exemplaren festgestellt wurde. *Festivus* hat gleichen ökologischen Charakter wie die beiden *Agroeca*-Arten und ist diesen in der Regel assoziiert. Er ist mit seinen rund 3 mm Körperlänge im weiblichen Geschlecht wesentlich kleiner als *Agroeca brunnea* (7,5 mm) und *Agroeca proxima* (6 mm). Es ist nun sehr bezeichnend, daß seine Kopulationszeit im Juni-Juli (mit Betonung des ersteren) genau die Lücke ausfüllt, die zwischen den Primärperioden der beiden *Agroeca*-Arten verbleibt.

2. Die Assoziation höherer Strata.

Tetragnathidae.

Gattung Tetragnatha. Die vortreffliche Bearbeitung dieser Gattung durch WIEHLE (1939) erlaubt hier die Behandlung aller einheimischen Arten. Im Untersuchungsgebiet wurden bisher die verbreiteten Spezies *Tetragnatha (Eugnatha) striata*, *T. solandri* (= *montana*), *extensa*, *obtusa* und *pinicola* gefunden. Diese Arten sind ökologisch scharf gesondert, worauf schon WIEHLE (1939, S. 378) genügend hingewiesen hat. Die hydrobionte *striata* lebt an höheren Pflanzen, die in Horsten im Wasser stehen, und hält sich nur an der „Wasserseite der Schilfzone von Seen“ (WIEHLE) auf. Auf der Landseite der Ufervegetation wird sie in frei belichtetem Gelände von der photophil-hygrophilen *extensa*, in beschattetem Gebiet von der hemiombrophil-hygrophilen *solandri* (= *montana*) abgelöst. *Solandri*, die sich von Juni bis August fortpflanzt, ist von der diplochronen *striata*, die nach WIEHLE Ende Mai bis Anfang Juni und dann wieder Anfang August Reifezeit hat, noch in gewissen Grenzen zeitlich gesondert, während sich die Fortpflanzungszeiten von *striata* und *extensa* einerseits und von *solandri* und *extensa* andererseits überschneiden. *Obtusa* ist wie *solandri* an Bestockung gebunden und mit dieser isochron. Während aber *solandri* an Ufergebüsch und in sumpfigen Waldbezirken (Bruchwälder) vorkommt, besiedelt *obusa* Coniferen, vor allem Fichten, in mäßiger feuchten Waldungen auf Lehmboden. *Pinicola* lebt bevorzugt in verheidetem Jungwuchs oder „auf niederen Pflanzen der Waldblößen“ (WIEHLE) und ist damit ökologisch von den vorgenannten Arten gesondert. Von den im Untersuchungsgebiet noch nicht beobachteten Arten wurde *nigrita* bisher nur an wenigen Stellen Deutschlands gefunden und WIEHLE (1939, S. 180) nimmt an, „daß sie häufig übersehen worden ist, weil man sie nicht zu sammeln verstand“. Dazu ist bemerkenswert, daß sich der

Biotop von *nigrita* (dürre Zweige von Bäumen und Sträuchern an Fluß-ufeln) weitgehend mit dem der überall häufigen *solandri* deckt. Auch die Fortpflanzungszeit der beiden Arten fällt zusammen. Vielleicht erklärt sich daraus die geringe Verbreitung dieser Art. Die kürzlich beschriebene *Eucta kaestneri* CROME wurde bisher nur am Kremmer See nordwestlich Berlin beobachtet (CROME 1954).

Dictynidae.

Gattung Dictyna. Mit Ausnahme von *arundinacea* wurde diese Gruppe aus fangtechnischen Gründen von mir nur lückenhaft und für ökologische Feststellungen unzureichend erfaßt.

Von den beiden Arten der *Ergatis*-Gruppe ist die grüne, an das Leben auf Blättern angepaßte *viridissima* wärmeliebend und vornehmlich in unmittelbarer Nähe von Hauswänden zu finden. In das Freiland scheint sie sich nur in sehr warmen Gegenden (Erlangen) zu begeben. An Waldrändern könnte sie sich dort mit der nächstverwandten *flavescens* treffen, die nach WIEHLE (1953, S. 84) vornehmlich auf Eichenblättern lebt. Die Reifezeit beider Arten ist aber sehr verschieden: sie liegt bei *flavescens* im Mai, bei *viridissima* im August und September. Die Verbreitungskreise von *arundinacea* und der ziemlich euryöken *uncinata* überschneiden sich teilweise, doch differiert die Fortpflanzungszeit der beiden Arten nach WIEHLE (1953, S. 91) etwas. *Pusilla* und *latens* scheinen nach WIEHLES zusammenfassenden Biotopangaben bevorzugt auf Heidekraut vorzukommen und würden hier *arundinacea* begegnen. Doch ließen diese beiden Arten bisher nur diskontinuierliche Verbreitung feststellen. Ihre Standortansprüche sind noch unklar.

Mimetidae.

Gattung Ero. *Furcata* und *tuberculata* wurden von mir bisher nur in Einzelindividuen erbeutet; *aphana*, von L. KOCH (1877) bei Nürnberg gefunden, wurde hier wohl übersehen. WIEHLE (1953) hat *furcata* „im Detritus, an unteren Zweigen von Fichten und Kiefern, an Baumstämmen und auf höheren Stauden angetroffen“. *Tuberculata* scheint nach mehreren Autoren Fichtenbestände und eine gewisse Feuchtigkeit zu suchen. Nach LOCKET und MILLIDGE (1953, S. 35 und 36) kommen beide Arten „in similar situations“ vor. Es ist demnach wahrscheinlich, daß die beiden Arten ökologisch wenig gesondert sind, dafür zeigen sie aber deutliche zeitliche Sonderung. WIEHLE (1953) nimmt mit DE LESSERT für *furcata* 2 Reifezeiten an: „Reife Männchen und Weibchen wurden im August und Anfang September und in den Frühlingsmonaten gefunden“. Die Primärperiode scheint nach mehreren Autoren im Spätsommer zu liegen. *Tuberculata* hingegen pflanzt sich nach WIEHLE und LOCKET-MILLIDGE im Juni fort. *Aphana* findet man nach WIEHLE

auf Nadelhölzern, sie könnte vor allem *tuberculata* assoziiert sein. Ihre Reifezeit, über die WIEHLE keine Angaben macht, liegt nach L. KOCH (1877, S. 29) im Mai, also früher als bei *tuberculata* und vermutlich mit der Sekundärperiode von *furcata* zusammenfallend.

Theridiidae.

Gattung Theridium. Der Gruppeneinteilung nach WIEHLE (1937), die eine Gewähr dafür geben würde, daß jeweils die systematisch und biologisch einander nächststehenden Arten verglichen werden, kann hier nicht gefolgt werden, da 6 der 9 Gruppen in ganz Deutschland nur mit einer Art vertreten sind (die Gruppen *redimitum*, *bimaculatum*, *tinctum*, *pallens*) oder nur eine ökologisch und biologisch besser bekannte Art aufweisen (Gruppen *vittatum*, *instabile*). Es sollen daher alle im Untersuchungsgebiet häufigeren Arten auf ihre Sonderung hin vergleichend geprüft und einzelne weitverbreitete, andernorts häufige Arten einbezogen werden, soweit ihr Biotop und ihre Reifezeit ausreichend bekannt sind.

Notatum und *impressum*, 2 häufige Erscheinungen unserer Arachnofauna, sind sehr nahe verwandt, gleich gefärbt und früher von verschiedenen Autoren, selbst von SIMON, miteinander verwechselt worden (WIEHLE 1937, S. 152/153). Auch die Unterscheidungsmerkmale der männlichen Taster drücken sich im wesentlichen nur in einer Längendifferenz der Konduktoren aus (vgl. WIEHLE 1937, Abb. 78 und 82). Beide Arten leben räumlich (horizontal und vertikal) und zeitlich gesondert. *Notatum* bleibt im Waldbereich und bevorzugt lichte Stellen und Randbezirke, wo es Jungföhren und *Sarothamnus* besetzt; *impressum* sucht offenes, trockenes Land, das mit Gramineen und Stauden bestanden ist, und Heideflächen. Erstere Art hält sich bevorzugt in Gebüschhöhe auf, letztere in der Krautschicht. Auf Heideflächen überlappen sich ihre Verbreitungsgebiete, doch sind diese Arten außerdem noch zeitlich gesondert: die stenochrome Reifezeit von *notatum* dauert nach WIEHLE und meinen Beobachtungen von Mitte Mai bis Mitte Juni, bei *impressum* beginnt sie erst etwa Mitte Juli und dauert bis in den Herbst hinein. In gleichem Biotop und Stratum wie *notatum* lebt *varians*. Die Reifezeit dieser Art beginnt aber erst Ende Juni und hat ihren Schwerpunkt im Juli. *Th. simile* hat seinen Verbreitungsschwerpunkt auf Heideflächen, wo es *Calluna* (und Jungföhren) besetzt. Hier begegnet es *impressum*. Da aber *simile* im Mai zur Fortpflanzung schreitet, differiert die Reifezeit dieser beiden Arten erheblich. Das Gebiet von *simile* überschneidet sich aber auch mit dem von *notatum* und *varians*. Abgesehen davon, daß *simile* hauptsächlich auf *Calluna* beschränkt bleibt (vgl. WIEHLE) und die anderen Arten in Gebüschhöhe leben, dürften diese Arten auch zeitlich gesondert sein. Bei *simile* ist als Fortpflanzungszeit allgemein der Mai bekannt, der genaue Beginn und das Maximum sind noch fraglich. Beginnt dessen Fortpflanzung Anfang Mai und liegt das Maximum in der ersten Maihälfte, so differieren

wenigstens die Maxima dieser Art und *notatum*, das von Mitte Mai bis Mitte Juni reif ist. *Simile* und *varians* (Ende Juni mit Schwerpunkt im Juli) sind ausgesprochen heterochron. *Th. pinastri* lebt nach WIEHLE (1937, S. 174) „auf Kiefern in trockenen Waldungen“. Die Art wurde im Untersuchungsgebiet noch nicht gefunden und WIEHLE bemerkt, daß sie in Deutschland nicht gleichmäßig verbreitet zu sein scheint. Andernorts dürfte sie *notatum* oder *varians* assoziiert sein. Da WIEHLE für *pinastri* eine längere Reifezeit beider Geschlechter (Juni-Juli) angibt, ist eine Schwerpunktsverlagerung der Fortpflanzungszeit bei den assoziierten, isotopen Arten wahrscheinlich. Im Gegensatz zu den vorgenannten xerophilen Formen ist *pictum* hemiombrophil-hygrophil. Diese Art beschränkt sich auf Weihergebiete, wo sie von der Ufervegetation über Uferwiesen bis zum nächsten Waldrand in großer Zahl in Erscheinung tritt und vorzugsweise Gebüsch besiedelt. Das Verbreitungsgebiet von *pictum* kann sich stellenweise mit dem von *bimaculatum* überschneiden, das in der Krautschicht feuchter Wiesen und Waldparzellen zu finden ist. Abgesehen von der verschiedenen Aufenthaltshöhe beider Arten, liegt die Fortpflanzungszeit von *bimaculatum* zwischen Ende Mai bis Anfang Juni, von *pictum* im Juni. Das häufige, ziemlich eurytop erscheinende *redimitum* reagiert hemiombrophil-hemihygrophil und zeigt sich vornehmlich an Buschwerk und Laubholz. Seine späte Fortpflanzungszeit, die Ende Juni beginnt und hauptsächlich im Juli liegt, würde sich intragenerisch nur mit der von *varians* decken und mit der noch späteren von *impressum* überschneiden. Von beiden Arten aber trennen es die Standortansprüche. Ein weiterer Gattungsvertreter, mit dem *redimitum* in anderen Gebieten seinen Biotop teilen könnte, ist *pallens*. Diese Art wurde hier noch nicht beobachtet. Sie lebt nach WIEHLE (1937, S. 179) „auf den Blättern der Laubbäume, vor allem auf Eichen“. Die Reifezeit von *pallens*, die nach diesem Autor von Ende April bis Mitte Mai dauert, liegt aber wesentlich früher als die von *redimitum*. Von den bisher erwähnten Arten haben sich *lunatum* und *tepidariorum* ökologisch abgesondert. *Lunatum* begegnet man nur stellenweise. Sein ökologischer Typ war mir 1952 noch nicht klar. Weitere Funde dieser Art in verschiedenen Biotopen ließen mich zu der Auffassung kommen, daß sie ombrophil-hygrophil reagiert, feuchte, dunkle Wälder (vor allem Fichten, dann Buchen) bevorzugt und dort an dünnen Ästen und Holzverschlängen ihr Netz anbringt. Das thermobionte, aus warmen Ländern bei uns eingeschleppte *Th. tepidariorum* lebt in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens Erlangen und breitet sich von hier aus auch in kühlere, aber feuchte Gebäudeteile (Aquarienräume, Stall und Waschküche des Zoologischen Instituts) aus. Auch L. KOCH hat die Art nur in Erlangen gefunden (1877, S. 25). Schließlich sei als Berichtigung noch *Theridium*

neglectum WIEHLE erwähnt. Diese in meiner Veröffentlichung 1952 nach WIEHLE (1937) als *denticulatum* angesprochene Art erwies sich nach WIEHLES berichtiger Ergänzung (1952) als *neglectum*. Sie ist von mir inzwischen an Aststummeln und Stämmen von Föhren auf trocken-sandigem Gebiet südlich Erlangens noch mehrfach gefunden worden. Dieser Biotop deckt sich mit dem von WIEHLE charakterisierten. Die Art fällt aber hier keineswegs ins Gewicht. Auf ihre geographische und ökologische Sonderung von *denticulatum* weist WIEHLE (1952) hin.

Gattung Diploa. Von den beiden häufigeren und über Deutschland gleichmäßig verbreiteten Arten *tristis* und *melanogaster* habe ich hier bisher nur die erstere feststellen können. Diese besetzt jüngere Föhren auf trockenen Sandböden. *Melanogaster* lebt nach WIEHLE (1937, S. 182) „am Waldrand, auf Feldhecken (Schlehen), auch auf Coniferen“. Eine ökologische Sonderung scheint demnach nicht deutlich ausgeprägt zu sein. Doch dürfte eine Differenz der Fortpflanzungszeit die beiden Arten trennen. WIEHLE hat reife ♂♂ von *tristis* von Mitte Mai bis Mitte Juni, von *melanogaster* im Juni und Juli gesammelt.

Gattung Episinus. Von den beiden Arten auf deutschem Gebiet (*truncatus* und *angulatus*) wurde von mir nur die erstgenannte beobachtet. Die Feststellungen WIEHLES (1937, S. 129—131) belegen die zeitliche Sonderung: *truncatus* „lebt auf Sträuchern und höheren Stauden. Reife Tiere habe ich im Juli und August gesammelt“. *Angulatus*: „Auch diese Art lebt auf Gebüsch und Stauden. Sie ist früher im Jahre als *truncatus* geschlechtsreif, adulte Tiere wurden im Mai, Juni und Juli gefunden.“

Araneidae.

Gattung Meta. *Menardi* (troglobiont) und *merianae* (troglophil) haben sehr ähnlichen ökologischen Charakter und sind vielfach isotop. Da sie in Höhlen nicht genügend zeitlich gesondert erscheinen, werden sie unter „Ausnahmen“ (S. 128) besprochen. *M. reticulata typica* und *varietas mengei* sind isotop, zeigen aber strenge zeitliche Sonderung, auf die S. 145 noch eingegangen wird.

Gattung Cyclosa. Die beiden Arten *conica* und *oculata* sind bei gleicher Fortpflanzungszeit ökologisch deutlich gesondert. Während sich *conica* hylobiont-euryhygr zeigt, ist *oculata*, die ich seit meiner Veröffentlichung 1952 noch zahlreich gefunden habe, auf einzelne, besonnte und extrem trockene Sandflächen konzentriert, wo sie ihr Netz dicht über dem Boden anlegt.

Gattung Aranea. Die artenreiche, typenmäßig und biologisch etwas heterogene Gattung läßt sich in einzelne Gruppen gliedern, deren Vertreter zueinander nächste Verwandtschaft zeigen. Ich folge hier der Gruppeneinteilung von WIEHLE (1931): 1. Gruppe: *angulata* (2. *bituberculata*), 3. *diadema*, 4. *foliata*, 5. *sexpunctata*, 6. *redii*, 7. *ceropogia* (8. *adiantha*), 9. *cucurbitina*, 10. *sturmi*, 11. *diodia*.

Von den beiden ersten Gruppen war bisher im Untersuchungsgebiet nur *angulata* in wenigen Individuen und in verschiedenartigen Biotopen zu finden. Auch WIEHLE fand sie „nirgends eigentlich häufig“. Aus der 3. Gruppe zeigen die nächstverwandten Arten *diadema* und *raji* nach meinen Untersuchungen gleichen Verbreitungsschwerpunkt, der in den Randzonen von Bruchwäldern liegt, und ungefähr gleiche Fortpflanzungszeit. Letztere Art, die ich inzwischen noch zahlreich beobachten konnte, erreicht allerdings nirgends die hohe Besiedlungsdichte wie *diadema*, worauf schon WIEHLE (1931, S. 78) hingewiesen hat. Es wäre aber durchaus denkbar, daß beide Formen in gleichartigen Biotopen einst sehr zahlreich waren und in starker Konkurrenz standen und *diadema* erst im Laufe der Zeit an Reaktionsbreite gewonnen hat. Diese Arten bilden also ein Ausnahmepaar, bei dem weder deutliche ökologische noch zeitliche Sonderung durchgeführt ist. Doch zeigt *diadema* gegenüber der hygrobionten *raji* eine sehr ausgeprägte Euryvalenz und damit viel weitere Ausbreitung. Im Verbreitungsschwerpunkt leben beide in sehr feuchtem Gebiet und zeigen gerade dort eine gelockerte Bindung an das von ihnen vorzugsweise besetzte Stratum III. Zahlreiche Individuen gehen aus Gebüschhöhe in tiefere oder höhere Fangschicht. Sonach gilt auch für dieses Artenpaar die S. 119 besprochene Sonderregel. Auch *reamuri* (= *quadrata*) hat mit den vorgenannten Arten der *diadema*-Gruppe annähernd gleiche Reifezeit, sondert sich aber als photophile Art von jenen (hemiombrophilen) weitgehend ab. Allerdings sind hierzu noch Einzelheiten zu bemerken. Decken sich auch die Reifezeiten dieser 3 Arten weitgehend, so lassen sich bei genauer Beobachtung doch feine Differenzen erkennen, die mir für die besprochene Sonderungstendenz sehr bezeichnend erscheinen und auf die Anbahnung einer zeitlichen Sonderung hindeuten. Die Durchführung einer solchen ist zwischen den Arten mit gleichem Verbreitungszentrum (*diadema* und *raji*) einleuchtend, sie ist aber auch zwischen *diadema* und *reamuri* verständlich. Verrät die Ausbreitung von *reamuri* aus freiem, feuchten Gebiet schon eine ziemliche Reaktionsbreite (vgl. TRETZEL 1952, S. 65), so könnte *diadema* bei Überbewertung von Einzelfängen geradezu eurytop erscheinen. Liegen auch die Schwerpunkte der beiden Arten getrennt, so überschneiden sich ihre Verbreitungskreise stellenweise, vor allem an lichten, feuchten Waldstellen, doch erheblich. Die an Zahl und Reaktionsbreite den beiden Schwesterarten weit überlegene *diadema* beeinflußt offenbar die Lage ihrer Kopulationszeit. Um mich aber von dem Verdacht frei zu halten, ich konstruiere diese wenig deutliche zeitliche Sonderung, zitiere ich hier nur WIEHLE (1931):

diadema: „... erreichen gegen Anfang August ihre Geschlechtsreife, die ♂♂ zuerst. Reife ♂♂ findet man bis Mitte September, einzelne Stücke natürlich auch später. ...“ (S. 73).

raji: „Reife ♂♂ fand ich in der zweiten Hälfte des August und Anfang September am häufigsten. Dann aber habe ich eine ganze Reihe reifer ♂♂ in meiner Sammlung, die ich in der ersten Hälfte des Oktober erbeutete. *Es scheint bei dieser Art mehr als bei den anderen der Gruppe eine Ausdehnung der Reifezeit der ♂♂ vorzuliegen.*...“ (S. 78).

reaumuri: „Reife ♂♂ findet man vor allen Dingen im August, meist etwas *zeitiger als die ♂♂ von Aranea diadema.*... Im Gegensatz zu *A. raji* findet man *selten verspätete ♂♂*“ (S. 81).

Diese völlig objektiven Feststellungen zwingen einem geradezu die Vorstellung auf, daß sich die beiden quantitativ und vielleicht auch biologisch schwächeren Arten nach *diadema* richten: *reaumuri* hat ihre Fortpflanzungszeit vorverlegt und abgekürzt. *Raji* hat das Maximum zurückverlegt; da sich aber ihre Kopulationszeit mit der ausgedehnten von *diadema* noch überschneidet, erfährt die Fortpflanzung bei ihr mehr als bei den anderen Arten eine Verzögerung. Nun ist (wie bei allen Angaben über die Fortpflanzungsperiode) zu bedenken, daß WIEHLES Zeitangaben sicher Mittelwerte darstellen, die aus den Beobachtungen in mehreren, witterungsverschiedenen Fangjahren gewonnen wurden. Die hier nur angedeutete Schwerpunktsverlagerung ist im Einzeljahre vielleicht schon eindeutig durchgeführt und wäre an Hand umfangreicher quantitativer Fänge statistisch zu beweisen. *A. alsine* wurde vielleicht wegen ihrer versteckten Lebensweise nur stellenweise beobachtet und ließ ihren Vorzugsbiotop auch von anderen Autoren nicht klar bestimmen. Auch sie sucht Feuchtigkeit und kann sich in bestocktem oder freiem Gelände mit den anderen Arten dieser Gruppe treffen. Abgesehen davon, daß sie vorzugsweise in der Krautschicht lebt, liegt ihre Reifezeit (Juni) wesentlich früher als die der anderen Arten. Die 3 im Untersuchungsgebiet und in ganz Mitteleuropa häufigen und auffallenden Arten der Gruppe 4 (*foliata*, *dumetorum* und *undata*) sind ökologisch streng gesondert: *undata* zeigt spezielle, stenovalente Bindung an Brücken und Gebäude in der Nähe fließender Gewässer, die hemiombiont-euryhygre *dumetorum* ist eine ausgesprochene Form der Waldrandzone und die photobiont-hygrophile *foliata* bewohnt ausschließlich unbedecktes, offenes Land und ist vor allem eine charakteristische Spinne der Ufervegetation stehender und fließender Gewässer. Im Übergangsbereich von baumlosem zu bestocktem Gelände lösen sich *foliata* und *dumetorum* sehr planmäßig ab. Nach WIEHLE (1931, S. 87 und 89) und meinen Beobachtungen sind beide Arten diplochron. Während *foliata* von April bis Juni und von September bis Oktober noch 2 wohlausgeprägte Reifezeiten erkennen läßt, ist die spätere Reifezeit von *dumetorum* nur noch durch das Auftreten einzelner Männchen angedeutet. Im Frühjahr scheint bei beiden Arten die Primär-, im Herbst die Sekundärperiode zu liegen. Dieser Fall einer vollständigen ökologischen Sonderung bei gleichsinnig gelegter

diplochroner Reifezeit entspricht ganz der Feststellung bei *Trochosa terricola* und *spinipalpis* (vgl. S. 144). Die Fortpflanzungszeit von *undata*, die vor ihrer speziellen Anpassung an menschliche Bauwerke im Sinne einer Kulturfolge mit den vorgenannten Arten (oder deren Stammform) in Berührung gekommen sein könnte, fällt bezeichnenderweise ziemlich genau in die Lücke zwischen den beiden Reifezeiten von *foliata* und *dumetorum* (vgl. WIEHLE 1931, S. 91: „Die meisten reifen ♂♂ fand ich im Juli und August, das ist auch z. B. für die Schweiz nach DE LESSERT die Hauptreifezeit. . .“). In Osteuropa wird *undata* durch *ixobola* vertreten (WIEHLE 1931, S. 92). Auch diese Art scheint in gleicher Weise wie *undata* ökologisch spezialisiert zu sein. Über ihre Reifezeit, die vermutlich mit der westlichen Art zusammenfällt, ist noch nichts bekannt. Die häufige *sexpunctata* der 5. Gruppe zeigt spezielle, auch morphologisch ausgeprägte Anpassung an den Aufenthalt unter lockerer Baumrinde und läßt gegenüber anderen, großen *Aranea*-Arten auch dadurch andersartigen ökologischen Charakter erkennen, daß sie gerne im Bestandsinneren des Waldes lebt. Ihre Schwesterart *silvicultrix* kommt in ganz Deutschland nur stellenweise und sehr vereinzelt, vor allem in Nordbayern, vor. WIEHLE (1931, S. 97) faßt sie als nordost-europäische Form auf. In ihrem deutschen Verbreitungsgebiet, so bei Erlangen, lebt sie neben *sexpunctata*. Die Arten scheinen aber zeitlich gesondert zu sein. Nach L. KOCH (1877) soll *silvicultrix* diplochron sein (April-Mai, Juli-August), während *sexpunctata* im Juni-Juli zur Fortpflanzung schreitet. Die photophil-xerophile *redii*, die einzige Vertreterin der 6. Gruppe, sondert sich als häufige und charakteristische Bewohnerin von Heideflächen und Ödland von allen anderen Gattungsvertretern ökologisch ab. Auch die 7. Gruppe stellt mit *ceropegia* nur einen Vertreter, dessen Vorzugsbiotop nicht klarzustellen ist. WIEHLE (S. 102) vermutet, daß sie nur in den Alpen eigentlich heimisch ist. Die sehr häufige *cucurbitina* der 9. Gruppe zeigt sich euryphot-euryhydr und nur auf die Besiedlung hellgrüner Pflanzenteile, vor allem Laubblätter, denen ihre Körperfarbe entspricht, angepaßt. *Westringi* (= *displicata*), die 2. Art des Untersuchungsgebietes, die in ganz Deutschland nur an wenigen Stellen gefunden wurde, scheint gleiche Fortpflanzungszeit wie *cucurbitina* zu haben, lebt aber stenovalent auf Nadelholz (Kiefern) an sehr trockenen Standorten. *A. sturmi* und *triguttata* (10. Gruppe) sind isochron, verraten aber nach WIEHLE dadurch eine ökologische Sonderung, daß erstere ausschließlich auf Nadelholz, letztere auf Laubholz lebt. *Triguttata* kommt außerdem nur an Orten warmer Lage vor. (Meine spärlichen Beobachtungen erlauben kein abschließendes Urteil.) Die 11. Gruppe hat in *diodia* nur einen hemiombrophil-xerophilen Vertreter.

Gattung Singa. Von den 6 *Singa*-Arten, die alle ziemlich übereinstimmende Reifezeit von Mai bis Juni (Juli) haben, sind *heri* und *nitidula*

durch ausgesprochene Hygrophilie von den übrigen Arten ökologisch gesondert. Untereinander schließen sich diese beiden in ihrem Vorkommen dadurch aus, daß *heri* in der Uferzone stehender, *nitidula* aber nur fließender Gewässer vorkommt. Bei *albovittata* bestätigen die Beobachtungen aller Autoren eine photophil-xerophile Reaktion. Der Vorzugsbiotop der restlichen Arten aber ist noch unklar. *Pygmaea* soll nach WIEHLE (1931) und anderen Autoren sumpfige Wiesen vorziehen. Wie DAHL habe ich sie aber ebenso auf trockenen Heideflächen beobachtet, wo sie *albovittata* assoziiert sein kann. Eine ökologische Differenz ist vermutlich nur aus mangelhafter Beobachtung noch undeutlich. Auch bezüglich der Fortpflanzungszeit dieser beiden Arten scheint wenigstens eine Schwerpunktsverlagerung zu bestehen. Der ökologische Charakter von *hamata* und *sanguinea* war aus Mangel an Individuenkonzentration und schwacher Besiedlung sehr verschiedenartiger Biotope nicht klarzustellen und ist auch aus Literaturangaben nicht zu einem klaren Bilde zu ergänzen.

Gattung Zilla. *Z. litterata* ist eine südeuropäische Form, die von Süden vorgedrungen ist und in nördlicheren Teilen Deutschlands *atrica* begegnet. Diese, von WIEHLE als westeuropäische Form aufgefaßte Spinne hat ihren geographischen Verbreitungsschwerpunkt innerhalb Deutschlands in den norddeutschen Küstengebieten. Sie fehlt in Südeuropa. Im Gegensatz zu *litterata*, die an Gebäuden lebt, bevorzugt *atrica* freistehende Sträucher (BRISTOWE 1929, S. 644 und WIEHLE 1931, S. 35). Diese ökologische Sonderung tritt besonders in ihren geographischen Überlappungsgebieten zutage. Auf den Scilly-Inseln aber, wo *atrica* fehlt, wurde *litterata* von BRISTOWE (1929) auch an Gebüsch beobachtet und umgekehrt machte WIEHLE (1931, S. 35) die Feststellung, daß *atrica* dort, wo *litterata* fehlt, auch deren Wohnplätze einnimmt. BRISTOWE bemerkt weiter, daß er auch in Überlappungsgebieten beide Arten niemals am gleichen Gebüsch gesehen hat. Die Arten sind aber außerdem noch unvollständig zeitlich gesondert: während die ♂♂ von *litterata* schon in der zweiten Hälfte des Juli erscheinen, werden sie bei *atrica* erst in der zweiten Augushälfte reif (WIEHLE 1931). *Z. stroemi* ist nach WIEHLE über ganz Deutschland verbreitet, aber nur an sehr zerstreut liegenden Orten bisher gesammelt worden. Ihre Reifezeit (Mitte Mai bis Juni) liegt wesentlich früher als die der vorgenannten Arten. *Montana* schließlich ist eine Höhenform, die im Gebirge alle anderen *Zilla*-Arten vertritt (WIEHLE).

Linyphiidae.

Gattung Linyphia. Die ökologischen Differenzen der *Linyphia*-Arten sind schwer festzustellen, da sie vor allem Gebüsch bewohnen und deshalb von den mechanisch arbeitenden Fangmethoden im quantitativen Verfahren nur mangelhaft erfaßt werden können. Es ist daher möglich, daß die gewonnenen Resultate noch verbessert und präzisiert werden können.

Die beiden euryök erscheinenden Arten *montana* (= *triangularis*) und *pusilla* sind zeitlich weit gesondert. Die überaus häufige *montana* sondert sich durch ihre späte Reifezeit im August auch von allen übrigen Gattungsvertretern zeitlich ab. Von den im Mai sich fortpflanzenden Arten ist *resupina-domestica* skotobiont-hygrobiont, *clathrata* hemiombrophil-hygrophil, *phrygiana* ombrophil-hemihygrophil (in Fichtenbeständen höherer Lage auf Lehmboden) und *hortensis* hemiombrophil-hemihygrophil (in Laubholzbeständen besserer Bonität). Das Vorkommen von *marginata* (ombrophil-euryhygr) überschneidet sich stellenweise mit dem von *phrygiana*, doch lassen die geringen Fänge beider Arten eine zweifelsfreie Beurteilung ihrer ökologischen Differenzen nicht zu.

Salticidae.

Gattung Evarcha. *Marcgravi* und *blancardi* sind ziemlich isochron, doch ist diese xerophil, jene hygrophil.

Gattung Euophrys. *Frontalis* und *petrensis*, die meist auf dem Boden bleiben, sind isotop, aber heterochron. Die durch Fallenfänge ermittelte Fortpflanzungszeit liegt bei *frontalis* im Mai, bei *petrensis* im Juni.

Gattung Salticus. Von den beiden isochronen Arten dieser Gattung hält sich *scenicus* an sonnenbeschienenem Mauerwerk, *cingulatus*, der seit 1952 noch zahlreich beobachtet werden konnte, an südlich exponierten Stämmen des Föhrenwaldes auf. Auf diesen ökologischen Unterschied hat schon BRISTOWE (1929, S. 644) hingewiesen.

Weitere Gattungen. Von den genannten Salticiden ist *Aelurillus insignitus*, der mit der Mehrzahl von ihnen isochron ist, dadurch ökologisch gesondert, daß er seinen Verbreitungsschwerpunkt wie *Cyclosa oculata* auf frei besonnten und extrem trockenen Sandflächen hat, während der ebenfalls isochrone *Sitticus floricola* stenotop in der Ufervegetation stehender Gewässer lebt. Standortansprüche und Fortpflanzungszeit von *Heliophanus flavipes* decken sich mit denen von *Evarcha blancardi*; während aber diese hauptsächlich in der Krautschicht bleibt, ist jener über die höheren Strata (II—IV) gleichmäßig verteilt. Diese Beispiele zeigen, daß unter den biologisch ziemlich gleichartigen Springspinnen auch eine intergenerische Isolation in Erscheinung tritt.

Thomisidae.

Gattung Xysticus. Unter den quantitativ stärker vertretenen Arten *pini*, *sabulosus*, *ulmi* und *viaticus* schließen sich *ulmi* (photophil-hygrobiont) als häufiger und charakteristischer Bewohner der Ufervegetation aller stehenden und fließenden Gewässer und *sabulosus* (photobiont-xerobiont), der auf baumlosen, trockensten Sandflächen lebt, in ihrem Vorkommen gegenseitig aus. Die Beurteilung des ökologischen Charak-

ters der sehr nahe verwandten Arten *pini* und *viaticus*, die ziemlich isochron sind, bereitet große Schwierigkeiten und kann noch nicht zweifelsfrei erfolgen. *Pini* bevorzugt den Föhrenwald auf Sandboden, in dem auch *viaticus* ursprünglich seinen Verbreitungsschwerpunkt gehabt zu haben scheint. Heute aber zeigt sich *viaticus* ausgesprochen euryök. Man kann ihm in jedem Biotop begegnen, trifft ihn aber nirgends in größerer Individuendichte. Da er eine der wenigen euryöken Spinnen ist, dürfte seine große Reaktionsbreite genügend Wege zu einer räumlichen Sonderung eröffnen. Sofern sich die Verbreitungsgebiete des xerophilen (?) *pini* und des xerobionten *sabulosus* überschneiden, sind diese Arten heterochron.

Agelenidae.

Gattung Agelena. Die Art der Sonderung zwischen *labyrinthica* und *similis* ist aus der Feststellung von M. DAHL (1931, S. 17) zu entnehmen: *similis* „lebt an denselben Orten wie *A. labyrinthica*, sie ist vielleicht etwas weniger häufig. Die Tiere werden etwas später reif“. Nach meinen Beobachtungen liegt die Kopulationszeit von *labyrinthica* im Mai, von *similis* im Juni (und später). Auch scheint mir der ökologische Charakter beider Arten etwas zu differieren und *similis* ein höheres Stratum zu bevorzugen.

Gattung Tegenaria. Beschämenderweise sind wir gerade über die Abundanz und Kopulationszeit unserer häufigsten und auffallendsten Hausspinnen *atrica*, *derhami* und *ferruginea* nur mangelhaft unterrichtet. Die Arten scheinen teils zeitlich gesondert zu sein, teils in unterschiedlicher Abundanz aufzutreten. *Atrica* hat nach L. KOCH (1877), M. DAHL (1931), LOCKET und MILLIDGE (1953, S. 10) und meinen Beobachtungen vom Spätsommer bis Spätherbst Fortpflanzungszeit, *ferruginea* nach M. DAHL ab Mai (nach anderen Autoren aber schon ab April) und *derhami* nach L. KOCH von Juni bis Oktober. Die zeitlichen Beobachtungen widersprechen sich aber noch so sehr, daß eine eingehende Nachprüfung in verschiedenen Gebieten notwendig ist. Ich nehme an, daß die Dominanz der einzelnen Arten in den verschiedenen Teilen unseres Faunengebietes abwechselt.

V. Sonderregel und Ausnahmen.

Folgende Artenpaare machen von der Regel einer räumlich-zeitlichen Sonderung eine deutliche Ausnahme: 1. *Pachygnatha clerckii* und *listeri*; 2. *Erigone atra* und *dentipalpis*; 3. *Bathypantes concolor* und *nigrinus*; 4. *Aranea diadema* und *raji*. Bei ihnen fällt nun auf, daß sie alle folgende 3 ökologischen Eigenarten zeigen, die sich als *Sonderregel* betrachten lassen:

1. Alle Arten leben in sehr feuchtem Biotop, die Paare Nr. 1, 3 und 4 im Bruchwald, Nr. 2 auf Überschwemmungswiesen. Der feuchte Biotop,

vor allem der Bruchwald, bietet durch sein zwar kühleres, aber konstanteres Mikroklima den adaptierten Formen einen klimatischen Vorteil. Außerdem dürfte das Nahrungsangebot in derartigen Lebensräumen größer sein, wodurch eine Nahrungskonkurrenz nicht so sehr ins Gewicht fällt.

2. Die Paare 1—3 leben zwar bevorzugt terrestrisch, besteigen aber auch in beträchtlicher Anzahl die Krautschicht. Paar 4, das sich vorzugsweise in Gebüschhöhe aufhält, wechselt seine Aufenthaltshöhe im Verbreitungsschwerpunkt auffallend stark. Durch diesen Übertritt in andere Strata haben die Tiere nicht nur größere Ausweichmöglichkeiten, sondern auch eine Erleichterung in der Deckung ihres Nahrungsbedarfs. Dabei ist zu bedenken, daß solche vertikalen Ausweichbewegungen stenohygren Arten unter Umständen nur in sehr feuchten Gebieten möglich sind. In diesem Verhalten darf man eine Vorstufe zu der vertikalen Verteilung erblicken, worauf S. 69 schon hingewiesen wurde, und folgern, daß diese Art der Verteilung sekundären Charakters ist.

3. Von diesen Artenpaaren strahlt immer eine Art, beim 1.—3. Paar die im Verbreitungszentrum zahlenmäßig schwächere, weiter aus und zeigt größere Reaktionsbreite als die Schwesterart. Sie wird aus optimalem Biotop offensichtlich abgedrängt. Vielleicht darf man in dieser Erscheinung die Vorstufe zu einer ökologisch-räumlichen Sonderung erblicken, die damit beginnt, daß eine der beiden Arten zunächst an Reaktionsbreite gewinnt und dadurch die Möglichkeit erhält, in suboptimale Biotope auszuweichen. Dadurch, daß die Bewohner solcher Randbezirke einen selektiven Vorteil genießen, kann es allmählich zur Anpassung an diese Biotope kommen, während die Ausgangspopulation im ursprünglich optimalen Biotop mit der Zeit der Konkurrenz zum Opfer fällt. Nur beim 4. Paar zeigt die weit stärker vertretene *diadema* auch die viel größere Reaktionsbreite und Ausbreitung. In diesem Falle wäre es durchaus denkbar, daß ursprünglich *raji* im Bruchwald zahlenmäßig überlegen war, aber mit zunehmender Trockenlegung von Sumpfbereichen in ihrem Bestande stark zurückgegangen ist.

Daß die Gesetzmäßigkeit der intragenerischen Isolation nicht ohne Ausnahmen bleiben wird, war zu erwarten. Doch sehe ich gerade darin eine besondere Bestätigung dieser Regel, daß die Ausnahmen wiederum ihre Eigengesetzlichkeit offenbaren, die zu erkennen gibt, daß die Notwendigkeit der intragenerischen Isolation nur unter ganz bestimmten Umständen umgangen werden kann. Die genannten Artenpaare bilden die eigentlichen und einzigen Ausnahmen, bei denen statistisch zweifelsfrei nachweisbar ist, daß sie bei ganz gleichartigen Standortansprüchen und gleicher Fortpflanzungszeit in den gleichen Biotopen auch wirklich in großer Zahl nebeneinander leben. Bei den folgenden Arten aber, die ebenfalls auf gleichen ökologischen Charakter schließen lassen und

isochron sind, verhält es sich so, daß sie einander im Biotop entweder ganz ausschließen oder ein von Biotop zu Biotop wechselndes umgekehrt proportionales Abundanzverhältnis zeigen. Diese Erscheinungen lassen eine *gegenwärtig wirksame interspezifische Konkurrenz* vermuten. Zu dieser Gruppe von Ausnahmen gehören folgende Arten:

1. *Stylothorax agrestis* und *retusa*.

Beide Micryphantiden traten nur an 4 Fallenstandorten auf Wiesen auf. Alle diese Standorte befinden sich in Flußnähe, 3 davon sogar in deren Überschwemmungsbereich. Auf anderen, gewässerfernen und trockeneren Wiesen fehlen beide Arten. Daraus ist zu folgern, daß beide sehr feuchte Wiesen suchen und vielleicht gleichartige Standortansprüche haben. Da sie auch isochron sind, könnten sie eine Ausnahme unserer Regel bilden. Sie lassen aber nun ein reziprokes Größenverhältnis ihrer Abundanz feststellen, das die folgende Übersicht zeigt:

	<i>retusa</i>	<i>agrestis</i>	
Standort a	38,2%	3,0%	Abundanz der Jahresassoziation
b	18,0%	7,7%	(durchschnittliche Fangziffer:
c	8,0%	0,5%	425 adulte Individuen)
d	0,5%	10,3%	

Es liegt nahe, in diesen Abundanzbeziehungen den Ausdruck einer Konkurrenz zu sehen, die in jedem Biotop nur eine der beiden Arten stärker aufkommen läßt. Im ganzen gesehen, tritt *agrestis* überall schwächer in Erscheinung. Sie ist auch im Durchschnitt die etwas kleinere Art (♀ 2,5 mm Körperlänge gegenüber 2,5—3 mm bei *retusa*). Doch ist bei der Beurteilung solcher Fälle äußerste Vorsicht geboten, da sich der Beweis nicht führen läßt, daß die Biotope und ökologischen Charaktere der beiden Arten wirklich gleich sind. Es ist zunächst viel wahrscheinlicher, daß gewisse standörtliche Differenzen das wechselweise Auftreten dieser Arten bestimmen. Nun ist der wesentliche Unterschied solcher tiefgelegener, gewässernaher Kulturwiesen im Binnenland der des Feuchtigkeitsgrades. Die Bestimmung dieser Werte durch Messungen ist bei so feuchten Standorten nicht eben leicht. Leichter ist es hier, die Feuchtigkeitsdifferenzen von der Abundanz solcher Arten abzuleiten, deren Feuchtigkeitsansprüche genügend bekannt sind. Natürlich dominieren an diesen feuchten Standorten hygrophile Elemente und bleiben in gewissen Grenzen auch dann noch dominant, wenn der Feuchtigkeitsgehalt des Gebietes etwas abnimmt. Doch bieten uns die *hemihygrophilen Arten ein feines Reagens für die Beurteilung kleiner Feuchtigkeitsdifferenzen*. Auch sie sind über Wiesen verschiedenen Feuchtigkeitsgrades verbreitet und dabei den hygrophilen Formen assoziiert, haben aber ihren Verbreitungsschwerpunkt eindeutig auf trockeneren, vor allem höher gelegenen Wiesen. *Ihr Abundanzanstieg*

zeigt erfahrungsgemäß den Übergang in trockeneres Gebiet deutlicher an, als der Abundanzrückgang der hygrophilen Formen. Als hemihygrophile Elemente befinden sich unter diesen Assoziationen: *Lycosa tarsalis*, *Tarentula pulverulenta*, *Tarentula cuneata*, *Trochosa ruricola*, *Dicymbium nigrum*; als hygrophile: *Pirata latitans*, *Lycosa pullata*, *Lycosa saccata*, *Trochosa spinipalpis*, *Pachygnatha clerckii*, *Erigone atra*, *Erigone dentipalpis*. In Abb. 14 ist die Abundanzsumme aller hygrophilen und hemihygrophilen Arten, dazu die Abundanz von *Stylothorax retusa* und *agrestis* in gesonderten Kurven dargestellt und ineinander projiziert. Ihr Verlauf zeigt unverkennbar den Abfall der relativen Häufigkeit von *Stylothorax retusa* bei starker Zunahme hemihygrophiler Elemente. Auch die umgekehrt proportionale Stärke des Auftretens hygrophiler und hemihygrophiler Arten ist wenigstens in großen Zügen zu verfolgen. Die wechselnde Abundanz von *Stylothorax agrestis* aber verrät keine bestimmte Richtung und ist daher des Einflusses unmittelbarer Konkurrenz besonders verdächtig. *Stylothorax retusa* sucht starke Feuchtigkeit. Sie ist der Schwesterart quantitativ und größenmäßig überlegen und dürfte demnach die dominante Art sein. *Agrestis* aber scheint innerhalb des Bereiches stärkerer Feuchtigkeit dort häufiger zu werden, wo *retusa* zurücktritt. Nun ist verwunderlich, daß an Standort b auch *agrestis* relativ stark vertreten ist. Gerade diese Feststellung spricht für gleichartige Standortansprüche. Sehen wir nun die Begleitarten dieser Assoziation b, die von *Erigone atra* angeführt wird, durch, so fällt auf, daß in ihr alle Lycosiden zusammengerechnet nur 3,9% Abundanz aufweisen. Es ist also weiter zu prüfen, ob bestimmte Beziehungen zwischen der Häufigkeit der Lycosiden und der *Stylothorax*-Arten festzustellen sind. Die Abundanz der Lycosiden könnte die Häufigkeit der *Stylothorax*-Arten insofern beeinflussen, als ihre Fortpflanzungszeit kollidiert. *Pirata latitans* hat wie die *Stylothorax*-Spezies im Juli Kopulationszeit, *Lycosa tarsalis* im Juni und Juli. Eine Abhängigkeit von diesen beiden Arten ist nur teilweise zu ersehen. Die übrigen Lycosiden dieser Biotope haben ihre Kopulationszeit bzw. deren Höhepunkt zwar früher, sind aber im Juli noch reif. Addieren wir nun je Standort die Abundanzwerte aller Lycosiden, der beiden *Stylothorax*-Arten und der übrigen Arten (Micryphantiden, Pachygnathen), so erhalten wir folgendes Bild (Abb. 15).

Aus dieser Darstellung ist abzulesen, daß sich an den Standorten c—d—a der quantitative Anteil der *Stylothorax*-Arten zu dem der Lycosiden umgekehrt proportional verhält und um eine Mittelachse pendelt, die die Häufigkeitskurve der restlichen Arten darstellt. In Standort b aber, an dem die Lycosiden fast verschwinden, könnten sich die *Stylothorax*-Arten quantitativ entfalten, müssen hier jedoch das Feld mit zahlreichen anderen Arten, vor allem Micryphantiden, teilen.

Eine Wechselbeziehung zwischen *Stylothorax* und Lycosiden ist unverkennbar, und es fällt auf, daß *agrestis* trotz der Häufigkeit von *retusa* gerade dort stärker in Erscheinung tritt, wo die Lycosiden fast verschwinden. Unter dem Gesichtspunkt der Konkurrenz gesehen, ist es verständlich, daß sich die *Stylothorax*-Arten untereinander desto stärker behaupten können, je weniger sie von anderen, größeren Arten (Lycosiden) gefährdet sind. Es muß hier aber abschließend betont werden, daß eine sichere Beurteilung dieses Falles aus Mangel an weiteren,

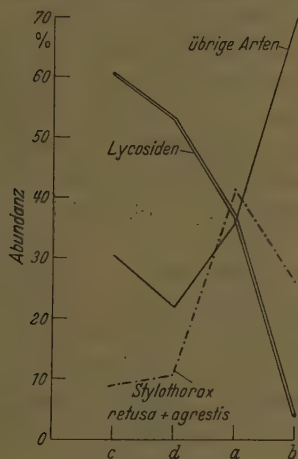


Abb. 14.

Abb. 14. Abundanzverhältnis zwischen *Stylothorax retusa* und *agrestis*, den hemihygrophilen und hygrophilen Assoziationselementen an 4 Standorten.

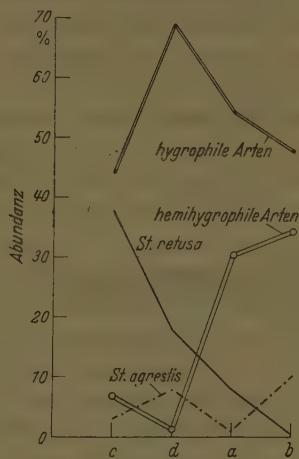


Abb. 15.

Abb. 15. Abundanzverhältnis zwischen *Stylothorax retusa* und *agrestis* (zusammengerechnet), den Lycosiden und den übrigen Arten an 4 Standorten.

genau untersuchten Standorten unmöglich ist. Daher könnten zwar vorstehende Erörterungen als überflüssig erscheinen, dürften aber methodisch von einigem Interesse sein, da sie analytische Möglichkeiten zeigen, wie aus der Abundanz ökologisch gut bekannter Arten auf die Standortansprüche unbekannter Formen und die Standortverhältnisse selbst geschlossen werden kann. Außerdem soll die mit Vorbehalt ausgesprochene Vermutung einer Konkurrenz zwischen diesen beiden *Stylothorax*-Arten zu weiteren Untersuchungen anregen.

2. Die *Porrhomma*-Arten der fränkischen Höhlen¹.

Die 3 *Porrhomma*-Arten (*proserpina*, *rosenhaueri*, *egeria*), die die Höhlen des Fränkischen Jura besiedeln, schließen sich in ihrem Vor-

¹ Das mit Äthylenglykolfallen in den Jahren 1940—1942 erbeutete Material, die Temperaturmessungen mit Hilfe zahlreicher Minimum-Maximumthermometer und genaue Auskunft verdanke ich Herrn Prof. Dr. H. J. STAMMER. Die Bestimmung dieser *Porrhommen* wurde von Herrn Dr. H. WIEHLE überprüft.

kommen gegenseitig aus. Diese eigenartige Erscheinung kann sich aus der geographischen Lage der Höhlen, aus dem Höhlenklima oder aus Konkurrenzgründen erklären. *P. rosenhaueri* ist geographisch auf die Umgebung von Muggendorf beschränkt und besetzt alle dortigen Höhlen (Rosenmüller-, Witzen-, Oswald- und Wundershöhle). *P. proserpina* findet sich nur im Gebiet von Streitberg (Binghöhle, Quellgrotte). *P. egeria*, die die weiteste Verbreitung zeigt, ist ebenfalls im Gebiet von Streitberg (Schönstein-, Brunnstein- und Ludwig Wunder-Höhle) zu finden, sodann bei Pottenstein (Große und Kleine Teufelhöhle) und Krottensee (Maximiliansgrotte). Könnte also das Auftreten der beiden erstgenannten Arten aus ihrer geographischen Verbreitung resultieren, so scheidet dieser Punkt für *egeria* aus, da er nicht erklärt, warum sie sich nicht auch in den von *proserpina* besetzten Höhlen um Streitberg angesiedelt hat. Abb. 16 gibt eine Darstellung des Temperaturbereichs, in dem die einzelnen Arten in den verschiedenen Höhlen leben. Aus ihr ist zu ersehen, daß *proserpina* und *rosenhaueri* in den von ihnen bewohnten Höhlen einer weit geringeren Schwankung im jährlichen Temperaturgang ausgesetzt sind als *egeria*. Nehmen wir an, die Arten hätten ihren Aufenthaltsort entsprechend ihren thermischen Bedürfnissen gewählt, so wären *proserpina* und *rosenhaueri* als stenotherm, *egeria* als eurytherm anzusprechen. Der gegenseitige Ausschluß der stenothermen Arten könnte sich aus einem verschiedenen Temperaturoptimum erklären; denn auffallenderweise ist das Jahresmittel der kältesten Höhle, die von *proserpina* noch besiedelt wird, genau gleich dem Jahresmittel der wärmsten Höhle, in der *rosenhaueri* vorkommt. Da die maximale Schwankungsbreite in den Biotopen von *proserpina* weniger tief als in denen von *rosenhaueri* reicht und sich weit nach oben ausdehnt, scheint diese Art die wärmebedürftigste dieser Porrohommen zu sein. Nun ist zu bedenken, daß diese Temperaturen in der Tiefe jeder Höhle, vielfach im innersten Teil, gemessen wurden. Die Porrohommen sind aber über alle Höhlenteile bis in Eingangsnähe verbreitet, kommen also auch in Bezirken vor, in denen die Temperaturschwankungen sicher weit größer sind. Doch mag diese Ausbreitung eine sekundäre, durch intra-spezifische Konkurrenz und Nahrungssuche bedingte sein. Für eine Primärbesiedlung und Behauptung der Population kann allein die Temperatur im Höhleninneren ausschlaggebend sein. Bestimmte mikroklimatische Ansprüche und geringe Reaktionsbreite gegenüber Temperatur können also die Beschränkung der stenothermen Arten *proserpina* und *rosenhaueri* auf einzelne Höhlen und sogar ihren gegenseitigen Ausschluß verständlich machen. Doch ist auch damit nicht erklärt, warum die eurytherme *egeria* in den von den beiden anderen Arten besetzten Höhlen fehlt. Wie die Abb. 16 zeigt, lebt auch *egeria* in Höhlen, deren Jahresmittel dem (angenommenen) Präferendum der beiden anderen Arten entspricht und deren größte Erwärmung der-

jenigen in den *proserpina*-Höhlen fast gleichkommt. Nicht (unter Umständen fehlerhafte) Präferenzversuche, sondern die natürliche Biotopwahl von *egeria* beweist, daß diese Art die physiologische Fähigkeit hätte, auch in den von den Schwesterarten besiedelten Höhlen zu leben. Da sie aber dort in den über 1 Jahr fängisch stehenden Fallen nicht einmal in Einzelindividuen festgestellt wurde, ist anzunehmen, daß die Konkurrenz der Schwesterarten ihrer Verbreitung Einhalt gebietet. Eine solche ist gerade in Höhlen sehr verständlich, da sich die Porrhommen aus mikroklimatischen Bedürfnissen hauptsächlich im Höhleninneren aufhalten und dort wenig Nahrung finden. Diese ausgeprägte Konkurrenz setzt voraus, daß die eingesessene Population eindringende Individuen der anderen Art bald erkennt und vernichtet. Dabei werden hauptsächlich juvenile Tiere als Eindringlinge in Betracht kommen. Aber auch erwachsene Eindringlinge von *egeria* dürften, abgesehen von ihrer zahlenmäßigen Unterlegenheit, bei diesem Konkurrenz-

kampf durch ein anderes Temperaturpräferendum benachteiligt sein. Nimmt man die Besiedlungsdichte der einzelnen Höhlen zum Maßstab für die Vorzugstemperatur, so müßte diese bei *egeria* zwischen $+7,3$ und $7,7^{\circ}\text{C}$ liegen. Zwischen diesen Werten bewegen sich die von *egeria* am stärksten besiedelten Höhlen. Demnach würde das Temperaturpräferendum dieser Art erheblich unter dem für die beiden anderen Formen angenommenen liegen. Das hindert diese eurytherme Spezies nicht, auch wärmere Höhlen zu besiedeln, solange sie frei sind. Im Konkurrenzkampf aber könnte ihr das andersartige Optimum auf Dauer nachteilig werden. Es wäre sicher aufschlußreich, wenn auch andernorts die Verbreitung der Höhlen-Porrhommen an Hand von Temperaturmessungen studiert würde.

3. *Lepthyphantes pallidus*.

In der Besiedlung der Höhlen durch *Lepthyphantes pallidus* offenbart sich eine zweifelsfreie Konkurrenz zwischen dieser eindringenden Art und den ansässigen *Porrhomma*-Spezies. Der ombrophil-hygrobionte

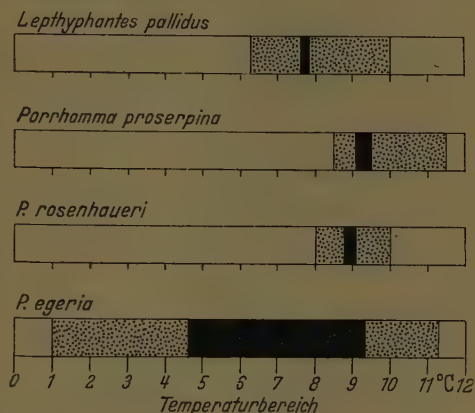


Abb. 16. Vergleichende Darstellung des Temperaturbereichs, in dem *Lepthyphantes pallidus*, *Porrhomma proserpina*, *rosenhaueri* und *egeria* in den fränkischen Höhlen leben. Schwarz: Schwankungsbreite der mittleren Jahrestemperatur in allen von der betreffenden Art besiedelten Höhlen. Punktiert: maximale Schwankungsbreite des jährlichen Temperaturverlaufs in diesen Höhlen.

pallidus ist eine Freilandsform, die in tiefschattigen, feuchten Beständen lebt. Dieser ökologische Charakter erlaubt ihr das Eindringen in Höhlen. *Pallidus* ist im ganzen Fränkischen Jura verbreitet und wurde festgestellt bei Streitberg (Kirchenweg-, Schönstein-, Brunnsteinhöhle), Krottensee (Geißloch), Pottenstein (Große Teufelhöhle) und Muggendorf (Rosenmüllershöhle). In Höhlen, die von einer *Porrhomma*-Art



Abb. 17 a—c. Das Eindringen von *Lepthyphantes pallidus* in Höhlen des Fränkischen Jura. Die von *L. pallidus* besetzten Höhlenteile sind schraffiert, die von *Porrhommen* besiedelten punktiert. a Brunnsteinhöhle (*Porrhomma egeria*), b Rosenmüllershöhle (*P. rosenhaueri*), c Kirchenweghöhle. Grundrisse vereinfacht nach NEISCHL (1903).

(*rosenhaueri* oder *egeria*) besetzt sind, bleibt *L. pallidus* eingangsnah (Abb. 17 a und b). Nur in 2 Höhlen (Kirchenweghöhle bei Streitberg und Geißloch bei Krottensee), die von *Porrhommen* frei sind, breitet sich *pallidus* über die ganze Höhle aus (Abb. 17 c). Die von ihm vollbesetzten Höhlen weisen eine mittlere Jahrestemperatur von 7,6 und 7,8° bei einer maximalen Schwankungsbreite von 6,25—10,0° C auf (vgl. Abbildung 16). Eine so ausgeprägte Stenothermie, wie sie bei Troglobionten in Rechnung gestellt werden kann, ist bei dieser Freilandsform nicht zu erwarten. Und wenn ihr Optimum entsprechend ihrer Ausbreitung zwischen 7,6 und 7,8° läge, wäre es unverständlich, warum sie beispielsweise in der von

Porrhomma egeria besetzten Schönsteinhöhle bei Streitberg, in der ein Jahresmittel von 7,7° (Schwankungsbreite 6—9°) herrscht, eingangsnah bleiben sollte. Das Auftreten von *pallidus* ist auch in den ausschließlich von ihm besiedelten Höhlen sehr gering. Im Laufe eines Jahres fingen sich in einer Falle nur einzelne Individuen. Doch kann, wie früher (1954, S. 645) schon bemerkt, bei dieser Fangmethode auch der negative Befund höher in Rechnung gestellt werden. Wie eine *Porrhomma*-Art eine andere am Eindringen in ihren Höhlenraum hindert, so scheinen alle *Porrhommen* einen erbitterten Kampf gegen *Lepthyphantes palli-*

das zu führen. Diese verstärkte Konkurrenz in Höhlen erklärt sich zweifellos aus dem dort sehr beschränkten Nahrungsangebot.

Es ist nun interessant, welche Unterschiede sich im Konkurrenzkampf dieser Höhlenspinnen zeigen. Während *Lepthyphantes pallidus* sich in den von Porrhommen besetzten Höhlen wenigstens in Eingangsnahe halten kann, wurde nicht ein Individuum einer zweiten, eindringenden *Porrhomma*-Art im ganzen Höhlenbereich gefunden. Die Erklärung dafür ist einfach: die eindringenden Porrhommen suchen entsprechend ihrer Stenovalenz ins Höhleninnere vorzudringen und fallen dort der Vielzahl der ansässigen Tiere zum Opfer. *L. pallidus* aber kann sich als Freilandform in dem Übergangsklima des Höhleneinganges gut halten und ist hier den bis zum Eingange vordringenden Porrhommen, die sich dort in ein Pessimum begeben, überlegen. Die Ausbreitung der Porrhommen vom Höhleninneren in Richtung zum Eingang möchte ich, wie schon erwähnt, als sekundäre auffassen. Es ist fraglich, wie lange sich diese Individuen in Eingangsnahe halten können. Welche Bedeutung hier offenbar die Umweltbedingungen, die für die eine Art optimal, für die andere suboptimal bis pessimal sind, im Konkurrenzkampf gewinnen, könnte daraus gefolgert werden, daß *Porrhomma egeria*, die Art, der *Lepthyphantes pallidus* vorwiegend gegenübersteht, diesem größtmäßig sogar überlegen ist (Körperlänge der ♀♀: *egeria*: über 2,5 mm, *pallidus*: über 2,0 mm). Diese Überlegung kann meines Erachtens auch in Freilandbiotopen nicht hoch genug in Rechnung gestellt werden!

L. KOCH (1871) hat eine *Linyphia troglodytes* aus der Rosenmüllershöhle beschrieben, die ROEWER (1942, S. 556) als *Lepthyphantes troglodytes* (L. KOCH) führt. Sie ist *L. pallidus* äußerst nahestehend. SIMON hat diese Art 1884 (S. 307) mit *Lepthyphantes pallidus* synonymisiert, aber 1929 (S. 601) die artliche Trennung wiederhergestellt. Auch ENSLIN (1906, S. 319), der diese Art in der Rosenmüllershöhle selbst gefunden hat, hält sie mit *L. pallidus* für identisch. Ob es eine Art *troglodytes* wirklich gibt, muß ich offenlassen. *L. pallidus* aus Höhlen unterscheidet sich jedenfalls nicht von den Freilandformen. Auch KAESTNER (1927) führt *L. pallidus* unter den Höhlenspinnen des Fränkischen Jura an. Die Abb. 17 und das weitere Vorkommen von *L. pallidus* in Höhlen stellen außer Zweifel, daß diese Art aus dem Freiland einwandert. In der Rosenmüllershöhle, wo L. KOCH seine *troglodytes* ausschließlich gefunden hat, hält sich *pallidus* in Eingangsnahe auf (vgl. Abb. 17b). Wenn an *pallidus* eine rassische Umbildung durch räumliche Isolation vor sich gegangen sein sollte, dann wäre sie zuerst in den Höhlen zu erwarten, die *pallidus* ganz besetzt hat; doch unterscheiden sich diese Individuen nicht von den Freilandformen. Da Herr Dr. WIEHLE diesen Fall zur Zeit prüft, will ich in dieser systematischen Frage nicht vorgreifen.

Eine ganz analoge Besiedlung von Höhlen wie *Lepthyphantes pallidus* zeigt *Centromerus jacksoni* DENIS¹, ebenfalls eine Freilandform. Er begleitet *L. pallidus* in den Eingangsstollen der Schönsteinhöhle bei

¹ Neu für Deutschland.

Streitberg, die von *Porrhomma egeria* besetzt ist, und bleibt mit ihm dort stehen. In der von Porrhommen freien Oswaldhöhle bei Muggendorf, einer Durchgangshöhle, aber ist *Centromerus jacksoni* ganz verbreitet.

4. *Meta menardi* und *merianae*.

Beide Arten leben in Höhlen und tiefen Kellern nebeneinander und haben dort zweifellos ihr Verbreitungszentrum. Während aber das Vorkommen von *menardi* auf diese unterirdischen Gebiete beschränkt bleibt, begegnet man *merianae* an schattigen, feuchten Stellen gelegentlich auch im Freiland. Das Auftreten und die Häufigkeit von *merianae* in den fränkischen Höhlen sind sehr unregelmäßig. Auch WIEHLE (1931, S. 126) bemerkt: „*Merianae* kommt im ganzen Gebiet vor, sie scheint aber nur stellenweise häufig zu sein.“ Unterschiede in der Fortpflanzungszeit beider Arten könnten bestehen, lassen sich aber nicht ohne weiteres feststellen, da ♂♂ beider Arten in allen Monaten wenigstens vereinzelt gefunden wurden und der Fang der Tiere mit der Hand erfolgen muß, wodurch die Feststellung der natürlichen Aktivität nicht möglich ist. Bei *menardi* scheinen die ♂♂ im April zahlreicher zu sein. Eine statistische Prüfung ist hier noch erforderlich. Abgesehen von der Ungewißheit einer zeitlichen Sonderung fällt auf, daß die relative Häufigkeit von *merianae* sehr von der Besiedlungsdichte der dominanten und fast doppelt so großen *menardi* abhängig ist. Darauf habe ich 1952 (S. 60) schon hingewiesen. Ich nehme an, daß *merianae* aus den Höhlen abgedrängt wird und wahrscheinlich im Umkreis der von *menardi* besetzten Höhlen zahlreicher im Freiland zu finden ist.

Überblicken wir die in diesem Abschnitt besprochenen Arten, die sich außerhalb der Gesetzmäßigkeit einer intragenerischen Isolation in Form einer räumlich-zeitlichen Sonderung stellen, so können wir sagen, daß nur die 4 Artenpaare, für die eine Sonderregel gilt, wirkliche Ausnahmen darstellen. In allen weiteren, als solche behandelten Fällen aber ist die Erscheinung der Art, daß 2 nächstverwandte Arten im gleichen Biotop mit annähernd gleicher Abundanz ohne räumlich-zeitliche Sonderung oder Schwerpunktsverlagerung nebeneinander leben, gar nicht nachweisbar. Hier führt die interspezifische Konkurrenz dazu, daß an den verschiedenen Standorten jeweils nur eine der konkurrierenden Arten dominiert oder bestimmte Arten im ganzen Gebiet keine höhere Abundanz erreichen können. Über die intragenerische Isolation hinaus ließ sich besonders bei Micryphantiden, deren Standortansprüche unkompliziert und mit Fallenhilfe besonders eindeutig zu ermitteln sind, sogar nachweisen, daß selbst Vertreter verschiedener Gattungen, die einander vor allem biologisch nahestehen, zeitlich gesondert sind, sofern sie nachweisbar sehr gleichartige Standortansprüche haben. Solche Fälle einer intergenerischen Isolation konnten weiter bei

Ageleniden und Salticiden aufgezeigt werden. Vermutlich ließen sich diese Befunde auf die meisten Familien ausdehnen, worauf schon die Feststellung einer zeitlichen Sonderung zwischen den führenden Assoziationselementen hindeutet (vgl. S. 89 ff.). Solch weitgehende Kombinationen haben aber erst Sinn, wenn entsprechende Untersuchungen auch in anderen Gebieten durchgeführt worden sind.

VI. Räumliche und zeitliche Sonderung.

Bei einer Reihe von Arten sind beide Sonderungsmöglichkeiten gleichzeitig ausgenutzt, beispielsweise bei *Tapinocyba antepenultima* und *pallens*, *Macrargus rufus* und *carpenteri*, *Tarentula aculeata* und *fabrilis*, *Tetragnatha solandri* und *striata*, *Theridium notatum* und *impressum*, *Aranea diadema* und *raji* und *reaumuri*, *Zilla litterata* und *atrica*. Dies ist vielfach bei solchen Artpaaren der Fall, die keine vollständige räumlich-ökologische Sonderung durchgeführt haben, bei denen nur die Verbreitungsschwerpunkte getrennt sind, die Verbreitungs-

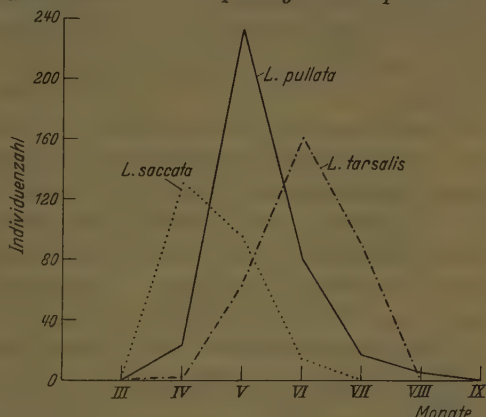


Abb. 18. Phänologie der ♂♂ von *Lycosa saccata*, *pullata* und *tarsalis*.

gebiete sich aber stark überschneiden. Besonders bemerkenswert ist diese zweifache Sonderung bei den *Lycosa*-Arten *saccata*, *pullata* und *tarsalis*, die vornehmlich auf frei belichtetem Gelände eine Artenkette von sehr feuchtem bis trockenerem Gebiet bilden. *L. saccata* hat ihren Verbreitungsschwerpunkt im Anspülicht und in der Ufervegetation stehender und fließender Gewässer, *pullata* auf Uferwiesen, *tarsalis* auf gewässerfernen, trockeneren Wiesen. Die Verbreitungskreise dieser Arten überschneiden sich aber stark. Einerseits begeben sich *saccata* und *tarsalis* auf Uferwiesen und begegnen dort *pullata*, andererseits breitet sich *pullata* in sinkender Abundanz weit über mittelfeuchtes Wiesengelände aus. Die hier zusätzlich ausgebildete zeitliche Sonderung ist aus Abb. 18 zu ersehen¹. Die Fortpflanzungsmaxima dieser 3 Formen sind über 3 Monate verteilt. Ähnlich, wie sich die Arten räumlich

¹ Während die phänologischen Kurven von *pullata* und *tarsalis* ausschließlich auf Fallenfängen fußen, mußten bei *saccata* auch Kescher- und Handfänge mitgerechnet werden, da diese auch in der Krautschicht lebende Art seltener in Bodenfallen geht und da sich diese Fangmethode wegen der Überschwemmungsgefahr im Uferbereich nur vereinzelt durchführen läßt. Doch entspricht das Auftreten der ♂♂ in den Fallen ganz dem der übrigen Fänge.

ablösen, so folgen sie einander auch jahreszeitlich. Im Mai überschneiden sich die Kurven, insbesondere die von *saccata* und *pullata*. Bei *saccata* ist aber vielleicht wegen dieser Überlappung noch zusätzlich eine Vertikalsonderung ausgebildet, indem diese Art häufig die Krautschicht besteigt. Diese Spezies sind also weder räumlich noch zeitlich vollständig gesondert; den genügenden Sonderungsgrad ergibt erst die Kombination von 3 Sonderungsmöglichkeiten.

Macrargus carpenteri wurde zwar von CAMBRIDGE 1894 als eigene Art beschrieben und auch von JACKSON 1916 als solche aufgefaßt, aber von verschiedenen Autoren (unter anderem LOCKET und MILLIDGE 1953) nur als Subspecies *M. rufus carpenteri*, von HOLM 1939 als *Macrargus rufus* var. *minutus* angesprochen. Ich neige der Auffassung der jüngeren Autoren zu. Jedenfalls handelt es sich um eine beginnende oder sehr junge Art, deren äußerst nahe Verwandtschaft mit *Macrargus rufus* unzweifelhaft ist. Sie stellt größenmäßig und konstitutionell sowie hinsichtlich der charakteristischen Bezeichnung an der Frontalseite der Cheliceren gewissermaßen eine kleine Ausgabe von *rufus* dar. Ökologisch ist sie nach den Befunden im hiesigen Untersuchungsgebiet die „Trockenrasse“ von *rufus*. Den ökologischen Charakter von *rufus* habe ich (1952, S. 82) folgendermaßen charakterisiert:

„Typisch hemihygrophile Form, die auf Sandböden bevorzugt in Moos, auf lehmigen Böden in Laubstreu lebt. Ihre höchste Abundanz erreicht die Art im Moos lichten Föhrenjungwuchses auf Sandboden. Aber auch in der Laubstreu der Waldungen besserer Bonität sind noch Abundanzwerte von 4,6—10,3% festzustellen. Die Ausstrahlung aus mittelfeuchtem Bereich erfolgt mehr in trockenere als in feuchtes Gebiet. So meidet *M. rufus* *Sphagnum* und fehlt allen Bruchwäldern, ist aber öfter auf reiner Nadelstreu an trockenen Standorten zu finden.“

Bemerkenswert ist also vor allem, daß die Ausbreitung von *rufus* mehr nach trocken tendiert. *M. carpenteri* findet sich nur in Föhrenwäldern. Er reagiert deutlich xerophil und hat seinen Verbreitungsschwerpunkt in Altholzbeständen und Stangengehölzen ohne Unterwuchs und auf Sandböden, die nur mit dürrtiger Nadelstreu bedeckt sind. Er zeigt sich noch an Standorten mittlerer Feuchtigkeit, ist stellenweise in der Moosdecke auf Sandboden zahlreich, fehlt aber jedem feuchten Biotop. Es ist meines Erachtens sehr wahrscheinlich, daß die Ausbildung der Trockenform *carpenteri* durch anhaltende Abdrängung eines Teiles der Population von *rufus* aus optimalem, mittelfeuchtem in trockenere Gebiet im Sinne einer ökologischen Isolation vor sich gegangen ist. Die Ausbreitung von *carpenteri* in mittelfeuchtes Gebiet ist infolge der hohen Abundanz in Trockengebieten (bis zu 56% der Jahresassoziation!) als sekundärer Rückstau aufzufassen. Die Speziation konnte in diesem Falle noch dadurch begünstigt werden, daß beide Formen zusätzlich eine gewisse zeitliche Sonderung ausgebildet haben: *carpenteri* hat das Maximum im Februar (mit steilem Abfall zum März

hin), *rufus* im März (mit starkem Anstieg im Februar). Biotop und Reifezeit würden zwar nach dem heutigen Befund eine Panmixie nicht ausgeschlossen haben; wir wissen aber in solchem Falle nicht, ob nicht ursprünglich die ökologische oder zeitliche Isolation viel strenger durchgeführt war. Eine mechanische Isolation ist in Anbetracht der zum Verwechseln ähnlich gebauten Kopulationsorgane höchstens durch deren Größenunterschied möglich. Doch ist auch denkbar, daß beide Formen ein anderes paarungsbiologisches Verhalten an den Tag legen. Ich vermute aber, daß sich bei genügendem Material aus den verschiedensten Gegenden eine Übergangsreihe von *rufus* zu *carpenteri* in der Größe und vor allem an Hand bestimmter Merkmale (Länge des frontalen Chelicerenzahnes bei *rufus*, der bei *carpenteri* zu einem Höcker reduziert ist, sowie Proportionen der „charakteristischen Lamelle“ des männlichen Tasters) aufstellen ließe.

VII. Das Problem der diplochronen Reifezeit¹.

Unter den Spinnenarten mit mehr oder weniger deutlich ausgeprägter diplochroner Reifezeit lenken vor allem folgende Arten unsere Aufmerksamkeit auf sich: *Coelotes atropos* und *inermis* (Agelenidae), *Zelotes latreillei* und *petrensis* (Gnaphosidae), *Agroeca brunnea* und *proxima* (Clubionidae). Alle 3 Artenpaare entstammen ganz verschiedenen Familien. Die jeweiligen Schwesterarten² sind zweifellos nächstverwandt. Sie haben paarweise gleichen ökologischen Charakter und leben sonach in gleichen Biotopen nebeneinander. Die *Coelotes*-Arten, die sich tagsüber gerne unter größeren Steinen aufhalten, kommen sogar unter den gleichen Steinen (allerdings in verschiedenen Entwicklungsstadien) nebeneinander vor. Die Artenpaare zeigen nun jeweils eine ausgeprägte zeitliche Sonderung. Alle Arten sind diplochron, ihre Reifezeiten, die im Frühjahr und Herbst (Spätsommer) liegen, sind in Primär- und Sekundärperiode differenziert. Die jahreszeitlich korrespondierenden Perioden eines jeden Paares decken sich weitgehend, Primär- und Sekundärperioden der Schwesterarten aber sind gegeneinander vertauscht: sie liegen reziprok.

Diese Verhältnisse zeigen die Abb. 19 (*Coelotes*), 20 (*Zelotes*) und 21 (*Agroeca*) in phänologischer Darstellung. Dabei ist zur Erleichterung der Vergleichsmöglichkeit und zur Raumersparnis jeweils nur das Auftreten der ♂♂, das allein für die Grenzen und den Höhepunkt der Fortpflanzungsperiode maßgebend ist, graphisch

¹ Meinem Freund und Kollegen, Herrn Dr. G. OSCHKE, Erlangen, verdanke ich Anregung und wertvolle Gedanken zur Deutung dieses Problems, das wiederholt Gegenstand fruchtbarer Diskussionen zwischen uns geworden ist.

² Die Bezeichnung „Schwesterarten“ ist hier nur als kurzer, allgemeiner Ausdruck für 2 nächstverwandte Arten gebraucht und entspricht schon kaum mehr dem Begriff „sibling species“ (Zwillings-, Paar- und Geschwisterarten) von MAYR (1949, S. 151 und 200) und erst recht nicht den „Geminospecies“ nach MEISE in der neuen, enger gefaßten Definition von OSCHKE (1954, S. 623).

dargestellt und paarweise übereinanderprojiziert. Phänologische Darstellungen für ♂♂ und ♀♀ zweier dieser Arten finden sich bei TRETZEL (1954, S. 656, Abb. 11 und 12). Bei *Agroeca proxima* (Abb. 21) tritt die Sekundärperiode nur noch im weiblichen Geschlecht in Erscheinung; daher ist hier auch die vollständige phänologische Kurve der ♀♀ (punktirt) mit eingezeichnet. Die Fangziffer von *A. proxima* ist im Verhältnis zu der von *A. brunnea* sehr gering, weshalb sich zur Angleichung

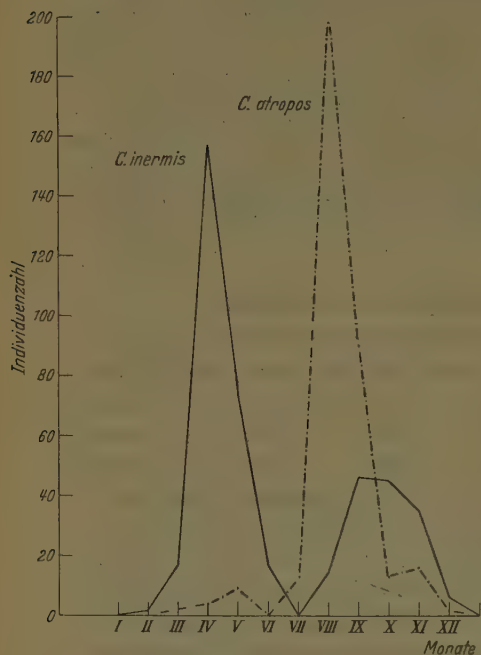


Abb. 19.

Abb. 19. Phänologie der ♂♂ von *Coelotes atropos* und *inermis* (Gesamtfangziffern aus allen Fangjahren und von allen Standorten).

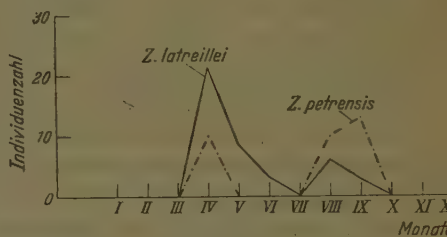


Abb. 20.

Abb. 20. Phänologie der ♂♂ von *Zelotes latreillei* und *petrensis*.

denken zerstreuen. Sie zeigt einen — in Anbetracht der minimalen Fangziffern — überzeugend gleichartigen Verlauf, wobei zu bemerken ist, daß sich das vorzeitige Auftreten einzelner ♀♀ (im Januar) und ♂♂ (im Juni-Juli) im Jahre 1949 aus der besonders warmen Witterung dieses Jahres (vgl. TRETZEL 1954, S. 671) und die verschiedenen Fangziffern aus dem Fang an verschiedenen Standorten erklären. [Weitere Belege für die Zuverlässigkeit der Fallenfangmethode finden sich in meiner vorgenannten Arbeit (S. 641 ff.).]

Wir wollen festhalten, daß die Fallenfangstatistik eine genügende zeitliche Sonderung dieser isotopen Schwesterarten durch reziproke Lage der Primärperioden zweifelsfrei beweist. Diese Tatsache fügt sich damit ganz in die Gesetzmäßigkeit der intragenerischen Isolation ein, die bei Spinnen in Form einer räumlich-ökologischen oder jahreszeitlichen Sonderung durchgeführt ist, und stellt einen besonderen Modus einer jahreszeitlichen Sonderung dar, den ich als *reziprok-diplochrone Periodizität*

bezeichnen möchte. Darüber hinaus aber sollen in diesem Kapitel noch Überlegungen angestellt werden, wie diese eigenartige Periodizität entstanden sein könnte; denn da sich diese phänologische Erscheinung, wie wir noch sehen werden, auch bei anderen ökologisch besser untersuchten Tiergruppen abzeichnet, handelt es sich offenbar um ein grundsätzliches biologisches Phänomen, für das jede annehmbare Erklärung noch aussteht.

Die Möglichkeit des Zufalls, insbesondere einer fangtechnisch vorgetäuschten Aktivität, wurde schon früher (TRETZEL 1954) ausgeschlos-

sen. Diese Erscheinung ist auch nicht durch witterungsbedingte oder standortsbezogene

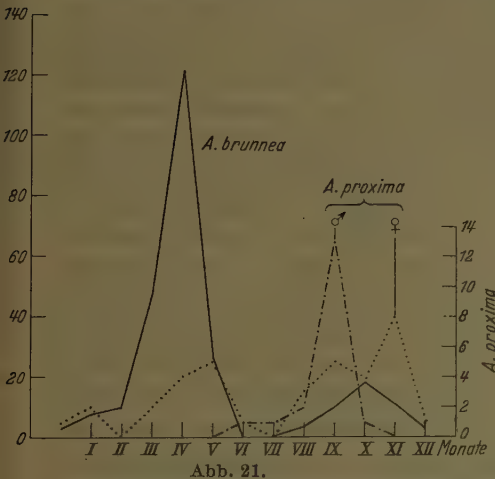


Abb. 21.

Abb. 21. Phänologie der ♂♂ von *Agroeca brunnea* und der ♂♀ von *A. proxima*. Wegen der sehr verschiedenen hohen Fangziffern der beiden Arten sind zur besseren Übersicht zwei gesonderte Ordinatensysteme verwendet.

Abb. 22. Phänologische Kurven von *Agroeca proxima* (♂♀) in verschiedenen Fangjahren.

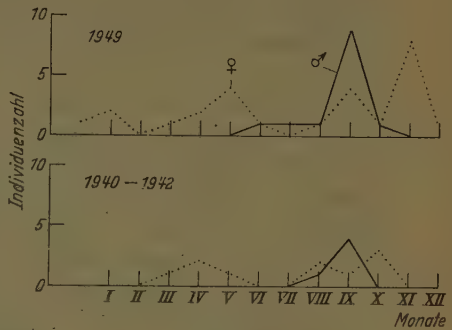


Abb. 22.

Einflüsse erklärbar, denn den phänologischen Kurven liegt generell die Summe der Fangziffern aus allen Fangjahren und von allen Standorten zugrunde. Exogene Einflüsse genannter Art können eine größere Streuung, d. h. eine Verbreiterung der Periodengrenzen bei gleichzeitiger Senkung der Maxima, bewirken; trotzdem bleibt das Prinzipielle dieser Erscheinung erhalten. Durch Zerlegung dieser Kurven in einzelne Fangjahre läßt sich zudem der Beweis erbringen, daß die ungleichen Perioden auch in sehr verschiedenen warmen Jahren different ausgeprägt bleiben und niemals ihre Plätze tauschen.

Die schon früher (1954, S. 641) gerade am Beispiel von *Coelotes inermis* veranschaulichten phänologischen Kurven in 2 verschiedenen Fangjahren (1941 und 1949) seien hier wegen der Wichtigkeit dieser Feststellung noch durch die Fänge im Jahre 1953 ergänzt (Abb. 23)¹. Die folgende Tabelle 1 läßt dazu die monatsweisen Mittelwerte der Lufttemperatur² in diesen Fangjahren vergleichen.

¹ Das Material hierzu entstammt Fallenfängen der Herren H. PFEIFER und CH. LICHTBLAU, Erlangen, denen dafür auch an dieser Stelle herzlichst gedankt sei.

² Diese und alle übrigen in diesem Kapitel angeführten meteorologischen Unterlagen verdanke ich dem Wetteramt Nürnberg des Deutschen Wetterdienstes.

Tabelle 1.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Jahr
1941	-5,1	-0,5	4,1	6,3	9,4	17,0	18,7	15,7	12,2	8,0	1,7	0,7	7,4
1949	0,4	0,0	2,4	11,0	12,7	14,3	18,2	18,1	16,4	10,7	3,5	2,9	9,2
1953	-1,1	0,6	5,1	10,3	14,8	17,3	18,9	17,0	14,1	9,9	3,7	2,2	9,5

Die zum Teil erheblichen Temperaturunterschiede dieser Jahre (man beachte das um $2,1^{\circ}\text{C}$ wärmere Jahresmittel von 1953 gegenüber 1941) haben sich auf die Phänologie dieser Arten nur insoweit ausgewirkt, als ihre Aktivität etwas früher oder später einsetzte und die Perioden verlängert wurden. So hat am Beispiel von *Coelotes inermis* die Primärperiode im Jahre 1941 durch die ausnehmend kühle Witterung im April und Mai eine Verzögerung erfahren, während sie sich in den folgenden, wärmeren Jahren weitgehend auf den April konzentrierte. Ein Vergleich der phänologischen Kurven der Jahre 1941 und 1953 zeigt sehr anschaulich, daß die Maxima der Sekundärperioden dem Ende (Kurvenabstieg) der entsprechenden

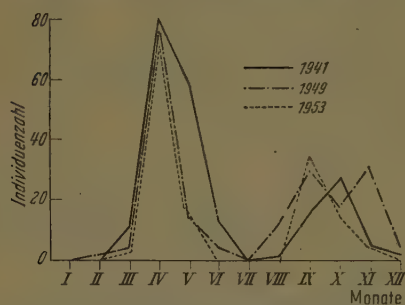


Abb. 23. Phänologische Kurven der ♂♂ von *Coelotes inermis* in 3 verschiedenen Jahren. Die obenstehende Tabelle 1 läßt hierzu die monatlichen Mittelwerte der Lufttemperatur in diesen Jahren vergleichen.

Primärperioden in gleichmäßigem Abstand folgen. So fiel das Maximum der Sekundärperiode, das normalerweise im September liegt, im Jahre 1941 wegen der genannten Verzögerung der Primärperiode erst in den Oktober. Einen noch gleichartigeren Kurvenverlauf zeigt *C. atropos*, auf dessen Abbildung daher hier verzichtet werden kann.

Die sommerliche Lücke zwischen den beiden Perioden erweist sich als konstant und nicht temperaturabhängig. Bleibt sie bei der summarischen Darstellung (Abbildung 19) auf den Juli beschränkt, so werden in den einzel-

nen Jahren auch schon im Juni nur noch einzelne adulte Individuen gefangen (Abb. 23: 1949 und 1953). Diese Lücke im Auftreten der Arten ist auch nicht durch die Annahme einer temperaturbedingten Inaktivität dieser Arten während des durchschnittlich heißesten Monats des Jahres (Juli) erklärbar; denn abgesehen davon, daß der August, in dem beispielsweise *Coelotes atropos* sein Aktivitätsmaximum hat, dem Juli an hohen Temperaturen wenig nachsteht, ja diesem in manchen Jahren gleichkommt (vgl. Tabelle 1: 1949!), gehen sowohl juvenile als auch subadulte und kurz vor der Reifehäutung stehende Stadien (darunter ♂♂ mit kolbig verdickten, noch undifferenzierten Palpen) im Juli in die Fallen, sind also durchaus bewegungsaktiv. Außerdem wurden von *Coelotes inermis* einzelne, von *Agroeca brunnea* aber eine ganze Reihe adulter ♀♀, bei denen die Periodizität ja weit weniger ausgeprägt ist als bei ♂♂, in dieser Zwischenzeit gefangen (vgl. TRETZEL 1954, S. 656, Abb. 11 und 12). Das konstante Fehlen adulter ♂♂ in

der Zeit zwischen den Perioden deutet also auf endogene Ursachen. Die geradezu unglaublich gleichartig verlaufenden Aktivitätskurven dieser Arten in verschiedenen warmen Jahren oder Jahreszeiten machen es auch ganz unwahrscheinlich, daß die Sekundärperiode bei der einen Art durch starke Wintersterblichkeit, bei der Schwesterart durch ausnehmend starke Ausfälle während der Sommermonate zustande käme, wie dies LARSSON (1939) für analoge phänologische Erscheinungen bei Carabiden angenommen hat (vgl. S. 154).

In Kenntnis der erwiesenen und unbestrittenen Bedeutung einer *geographischen Isolation* für die Artbildung allgemein und in Anbetracht der vorherrschenden Auffassung der Phylogenetiker, daß eine Artbildung ohne diese oder wenigstens deren Mitwirkung unmöglich sei, haben wir uns zunächst zu überlegen, wie die besprochene Periodizität im Rahmen dieses Isolationsmodus entstanden sein könnte. Dabei begegnen wir bei diesem Phänomen gerade wegen der zeitlichen Kongruenz beider Perioden einigen Schwierigkeiten. Wir müßten dann annehmen, daß die durch geographische Isolation entstandenen Schwesterarten im Verlaufe ihres Artbildungsprozesses zunächst zwei zeitlich kongruente und wohl auch annähernd gleich starke Fortpflanzungsperioden ausgebildet hatten. Bei sekundärer Begegnung dieser Arten im gleichen Gebiet hätte dann die entstehende Konkurrenz zu einer reziproken Verlagerung der Hauptfortpflanzungsperiode gezwungen.

Allgemein erhebt sich aus den hier mitgeteilten Befunden über die gesetzmäßigen Sonderungsbestrebungen, die zweifellos einer biologischen Notwendigkeit entspringen, und dem Nachweis der starken Wirksamkeit einer interspezifischen Konkurrenz die Frage, ob und inwieweit sich 2 isochrone Arten im gleichen Gebiet überhaupt begegnen können. Da die besprochenen Arten aber nach Durchführung einer genügenden zeitlichen Sonderung jetzt im gleichen Gebiet nachweislich zusammenleben und dabei eine solche Individuendichte erreicht haben, daß sie zu den häufigsten Vertretern unserer Spinnenfauna zählen, brauchen wir diese Frage nicht weiter diskutieren. Doch ist diese Überlegung wichtig, weil sie ganz grundsätzliche Zweifel an der Möglichkeit einer sekundären *vollständigen* Kongruenz der Verbreitungsgebiete aufkommen läßt.

Jedoch wird die Vorstellung einer weitgehenden sekundären Überlappung der Verbreitungsgebiete zweier nächstverwandter Arten dadurch erleichtert, daß man ihre Ausbreitung zu einer Zeit annimmt, wo ihrer beider Populationsziffer durch ungünstige Umweltbedingungen sehr niedrig gehalten wurde und sich deshalb die Konkurrenz der beiden Arten noch nicht so stark bemerkbar machte. Erst in dem Maße, wie mit der Besserung der Umweltbedingungen ihre Produktion stieg, wurden sie zu immer schärferen Konkurrenten, die sich schließlich zu einer jahreszeitlichen Sonderung zwangen.

Der einfachste und wohl häufigste Vorgang beim sekundären Einschieben der sich ausbreitenden Populationsteile einer Art in das Verbreitungsgebiet nächstverwandter Arten dürfte der von jahreszeitlichen „Ausweichbewegungen“ sein, die nach selektionistischem Prinzip

dadurch zustande kommen, daß die etwas früher oder später reifenden Individuen an den zeitlichen Randzonen der ursprünglichen Fortpflanzungsperiode einer geringeren Konkurrenz begegnen. Diese ausweichenden Verschiebungen der Fortpflanzungsperiode über den Weg der Auslese finden wir bei zahlreichen stenochronen Arten, aber nicht eindeutig in diesen Fällen durchgeführt. Ihre Durchführung würde es auch erlauben, daß beide Perioden gleich stark entwickelt werden könnten.

Zwar erkennen wir bei genauer Betrachtung der phänologischen Kurven (Abb. 19 und 21) gewisse zeitliche Differenzen zwischen der Primärperiode der einen und der zeitlich korrespondierenden Sekundärperiode der Schwesterart, die bei den *Coelotes*- und *Agroeca*-Arten analog ausgebildet sind und die bei den *Zelotes*-Arten vielleicht nur aus Materialmangel nicht deutlicher in Erscheinung treten. Diese Differenzen lassen sich in erster Linie durch jahreszeitlich bedingte und in Zusammenhang mit dem Nahrungsangebot stehende Faktoren erklären. In jedem Falle liegen die Maxima der Primärperioden etwas vor denen der Sekundärperioden. Geht man von einer völligen zeitlichen Deckung der korrespondierenden Perioden aus, so ist es für die Erklärung der Ursache dieser Verschiebung belanglos, ob man die Lage der Primärperioden oder die der Sekundärperioden als ursprünglich annehmen will. In diesem Falle wären die Primärperioden sekundär vorverlegt, in jenem die Sekundärperioden verzögert worden. Eine geringe Verschiebung beider in entgegengesetzter Richtung dürfte die Gesamtdifferenz ergeben haben. Die Sekundärperioden, die nach meiner unten dargelegten Auffassung durch das Erscheinen vorzeitig gereifter Individuen zustande kommen, sind durch die physiologisch mögliche Minimalzeit für die Entwicklung zur Geschlechtsreife zeitlich festgelegt und folgen in einem durch die Jahreszeit und das Nahrungsangebot bestimmten Abstand auf die Primärperioden. Dieser Abstand beträgt bei der Frühjahrsart (beispielsweise *Coelotes inermis*, Abb. 19) nur 5, bei der Herbstart (*C. atropos*) hingegen 9 Monate. Die kürzeste Entwicklungsdauer kann auch bei günstigsten Umweltsbedingungen nicht unterschritten werden. Die Primärperioden jedoch entstehen durch das Massenauftreten derjenigen Individuen, die die normale, einjährige Entwicklungszeit durchlaufen haben und dabei einen größeren zeitlichen Spielraum hatten. Die Maxima der Primärperioden können also leichter vorverlegt werden, während die Sekundärperioden eine Verzögerungstendenz zeigen müssen. Diese zeitliche Differenz zwischen Primär- und korrespondierender Sekundärperiode ist im Herbst größer als im Frühjahr, weil einerseits die Endphase der Normalentwicklung der Herbstart (*C. atropos*) in die warme Jahreszeit fällt und andererseits die Sekundärperiode der Frühjahrsart (*C. inermis*) von solchen Individuen gebildet wird, deren Entwicklungsgeschwindigkeit die untere Grenze erreicht hat. Den während der warmen Jahreszeit günstigeren Außenbedingungen ist es auch in erster Linie zuzuschreiben, daß der Schub vorzeitig entwickelter Individuen und damit der Umfang der Sekundärperiode im Herbst größer ist als im Frühjahr. So erklärt sich die auffallende Verbreiterung der Sekundärperiode bei *Coelotes inermis* im Jahre 1949 (vgl. Abb. 23 und Tabelle 1) durch die hohen Temperaturen dieses Jahres in den Monaten Juli, August und September, die die Entwicklung der Jugendstadien sehr gefördert haben.

Diese besprochenen zeitlichen Differenzen der Perioden sind nicht so ausgeprägt, daß sie als vollzogene und wirksame zeitliche Sonderung betrachtet werden können. So liegt die Sekundärperiode von *Coelotes atropos* noch ganz innerhalb des Massenauftretens der *C. inermis*-♂♂ zur Zeit ihrer Primärperiode. Nur die

Sekundärperiode von *inermis* ist gegen das Ende der Primärperiode von *atropos* verschoben; doch liegt auch ihre Spitze noch deutlich innerhalb der Grenzen der Primärperiode der Schwesterart. Erst wenn der Kurvenanstieg bei *inermis* zwischen August und September in gerader Linie weitergeführt würde, schiene eine zeitliche Sonderung vollzogen und wäre die Schwesterart als Konkurrentin nicht mehr so hinderlich. Aber gerade die Tatsache, daß dieser Vorteil im Oktober und November nicht ausgenützt wird, spricht gegen eine Verschiebung dieser Perioden im besprochenen Sinne; denn rein temperaturmäßig wäre die Ausnützung des Oktobers als Aktivitätsperiode für diese Art möglich, da die Temperaturdifferenz zwischen April (dem Maximum der Primärperiode dieser Art) und Oktober nach den von 1881—1940 in Erlangen gemessenen Werten im Mittel nur $0,1^{\circ}\text{C}$ beträgt! Inwieweit aber die Verzögerung der Sekundärperioden außer durch obengenannte Faktoren auch durch Konkurrenz bedingt ist und sich eine zeitliche Sonderung anbahnt, muß dahingestellt bleiben.

Die einzige Erklärungsmöglichkeit, die ich für das Zustandekommen dieser reziprok-diplochronen Periodizität im Verlaufe einer Artbildung durch geographische Isolation finden konnte, setzt die Annahme voraus, daß von den jeweiligen Schwesterarten die eine ihr Entstehungsgebiet nördlicher oder in Höhen, die andere südlicher oder in der Ebene hatte und zwei zunächst gleich starke Perioden ausgebildet waren. Im Laufe der Speziation wurde die erstere kalt-, die letztere warmadaptiert. Solange die Arten geographisch getrennt geblieben sind und nicht unter dem Konkurrenzdruck der Schwesterart stehen, kann sich ihre Fortpflanzungstätigkeit in beiden Perioden gleich stark entfalten. Sobald sie aber bei sekundärer Begegnung im gleichen Gebiet miteinander in Konkurrenz treten, wird die phänologische Schwerpunktsverlagerung dadurch von selbst geregelt, daß die warmadaptierte Art im Sommer, die kälter adaptierte im Frühjahr den Vorteil der besseren Anpassung findet. Nur so wäre verständlich, warum die selektiven Vorteile beider Arten reziprok liegen sollten.

Ein Vergleich der Temperaturen, in denen diese Arten ihre größte Aktivität entfalten, stützt die Annahme einer verschiedenen Vorzugstemperatur. Das Temperaturmittel (bezogen auf den langen Zeitraum von 1881—1940) der Monate, in die die Primärperioden der Schwesterarten fallen, beträgt bei den *Coelotes*-Arten $7,8$ (April) und $16,7^{\circ}$, bei den *Agroeca*- und *Zelotes*-Arten $7,8$ (April) und $13,1^{\circ}$ (September); die Differenzen von $8,9$ und $5,3^{\circ}$ sind also erheblich. Die Bedeutung der Volladaptation im Konkurrenzkampf ließ sich schon aus der Verbreitung der *Porrhomma*-Arten in Höhlen und der Besiedlung subterranean Gebiete durch *Lepthyphantes pallidus* folgern (S. 125 und 127).

Diese Erklärung erscheint einfach, fast selbstverständlich, und wird von denjenigen Forschern sicher gerne akzeptiert werden, die von der Notwendigkeit einer geographischen Isolation für die Artbildung überzeugt sind. Sie befriedigt nur insofern nicht restlos, weil aus der allgemeinen geographischen Verbreitung dieser Arten nach den bisherigen, in diesem Punkte aber sicher noch nicht abgeschlossenen, Untersuchungen keine geographische Schwerpunktsverlagerung den getrennten

geographischen Ursprung andeutet. Vielmehr scheinen gerade die *Coelotes*-Arten demselben Zentrum Mitteleuropas zu entstammen, also sympatrischen Ursprungs zu sein. Außerdem bliebe es bei dieser Auslegung verwunderlich, warum die (angenommen) thermophile Art, die nach dieser Auffassung im Frühjahr an einer Fortpflanzung weitgehend gehindert wird, nicht schon in dem konkurrenzfreien Juli, dem durchschnittlich heißesten Monat des Jahres, dessen Temperaturdifferenz gegenüber dem Mittelwert des August $1,1^{\circ}$ beträgt, eine größere Aktivität entfalten sollte. Und gerade die phänologische Konstanz in verschiedenen warmen Jahren läßt bezweifeln, ob der im Konkurrenzkampf günstige Vorteil in einer bestimmten Vorzugstemperatur und den damit gekoppelten Faktoren gesehen werden kann.

Dem unbefangenen Beurteiler deuten die Gleichartigkeit der Standortansprüche eines jeden Artenpaares, die Bevorzugung höherer Lagen bei den Coelotes-Arten, die kongruente Lage beider Perioden, in der sich zumindest die Möglichkeit ausdrückt, auch zu der für die Schwesterart günstigen Jahreszeit aktiv sein zu können, wenig auf eine vorausgegangene geographische Isolation und die dabei ausgebildeten phänologischen und letztlich auch ökologischen Unterschiede.

Immerhin erscheint mir diese Deutung als eine Möglichkeit, diese Periodizität im Zusammenhang mit einer Artbildung durch geographische Isolation zu erklären. In diesem Falle wäre also die Reduktion der Sekundärperiode eine unmittelbare Folge der Konkurrenz zwischen den Schwesterarten. Demnach könnte diese Periode in Gebieten, wo nur eine Art eines Paares vorkommt, der Primärperiode angeglichen werden. Innerhalb des Untersuchungsgebietes kommt beispielsweise *Coelotes atropos* nur an einzelnen Stellen allein, aber so individuen-schwach vor, daß diese Fänge keine ausreichenden Unterlagen für die Beantwortung dieser Frage bieten. Doch scheint auch an diesen Stellen die festgestellte Periodizität gewahrt zu bleiben. Zur Beurteilung dieser wichtigen Frage sind also Fallenfänge in anderen Gebieten, vor allem in Südengland, wo nur *Coelotes atropos* vorkommt, *inermis* aber fehlt, abzuwarten.

Eine zweite, aber sehr gegensätzliche Erklärungsmöglichkeit ist in der Annahme gegeben, daß diese Schwesterarten jeweils durch *jahreszeitliche Isolation* ohne Mitwirkung einer geographischen Isolation entstanden sind. Diese Deutung trägt ihrem gemeinsamen Verbreitungsgebiet Rechnung, faßt die Periodizität als endogenen, durch witterungsbedingte Einflüsse und weiterbestehende Konkurrenz nur wenig beeinflussten Ursprungs auf und erklärt die Sekundärperioden in unkomplizierter Weise (wenigstens ursprünglich) als Atavismus. Daher hat diese Deutung in meinen Augen und nach den bisherigen Unterlagen über diese Fälle die größere Wahrscheinlichkeit für sich.

Eine Artbildung durch jahreszeitliche Isolation aber kann in diesem Falle nicht einfach nach dem S. 74 gegebenen Schema abgelaufen sein; denn dann dürfte jeder Deszendente nur eine Fortpflanzungsperiode haben: der eine im Frühjahr, der andere im Herbst (Spätsommer). Die Deutung wird hier erschwert durch die Erscheinung der Sekundärperioden.

Die wahrscheinlichste Erklärung für das Zustandekommen dieser reziprok-diplochronen Periodizität ist folgende: Nehmen wir als Stammform eine Art mit eurychroner, über das Sommerhalbjahr reichender Reifezeit bei durchschnittlich einjähriger Entwicklungsdauer an. Der Begriff der eurychronen Reifezeit, die sich in der Fangstatistik durch eine über etwa $\frac{1}{2}$ Jahr währende Aktivität vor allem der ♂♂ ausdrückt, besagt, daß über längeren Zeitraum reife Tiere in Erscheinung treten. Diese können entweder eine längere Lebensdauer und Aktivität im adulten Stadium haben oder — was bei den kurzlebigen ♂♂ wahrscheinlicher ist — nicht schubweise, sondern *metachron* reif werden und zur Fortpflanzung schreiten¹. Wir müssen also annehmen, daß es während der Reifeperiode zu laufenden Begattungen unter den nacheinander reifenden männlichen und weiblichen Individuen kommt. Dabei können innerhalb der Grenzen der entwicklungsphysiologischen Mindestzeit einzelne im Frühjahr, d. h. zu Beginn der Fortpflanzungsperiode, erzeugte Nachkommen schon wieder im Herbst geschlechtsreif sein und entsprechend im Herbst erzeugte Individuen im nächsten Frühjahr. Dagegen würde eine Frühentwicklung der aus der Mitte der Reifeperiode stammenden Individuen in den Winter treffen und durch Kälte und Nahrungsmangel eine Verzögerung bis zum Frühjahr erfahren. Diese Frühentwicklung aber machen nur einzelne Individuen durch, während von der Masse der Tiere die einjährige Entwicklungsdauer beibehalten wird, so daß die im Frühjahr erzeugten Individuen wieder im nächsten Frühjahr, die im Sommer erzeugten im nächsten Sommer usw. zur Fortpflanzung kommen können (vgl. Abb. 24a).

Die Möglichkeit einer beschleunigten Entwicklung eines Teiles der Population ist hier nicht um dieser Hypothese willen konstruiert, sondern an anderen Spinnen beobachtet worden (vgl. WIEHLE 1939, S. 21: *Eugnatha striata*; zitiert von TRETZEL 1954, S. 681). Die phänologische Kurve von *Bathypantes concolor* (s. TRETZEL 1954, S. 653, Abb. 8) spiegelt diese Verhältnisse wider. Hier wie bei anderen eurychronen Arten deuten die Schwankungen im Kurvenverlauf Unregelmäßigkeiten in der Aktivität und im quantitativen Auftreten an. Anfang und Ende dieser eurychronen Periode sind deutlich angehoben und lassen sich durch

¹ Vgl. hierzu die Angaben WIEHLES (1931, S. 91) über die eurychrone *Aranea undata*, deren Hauptfortpflanzungszeit im Juli und August liegt: „... Wenn man die Stücke eines Fundortes längere Zeit hintereinander beobachtet, das kann man ja selbst mitten in den Städten an einer Brücke tun, so stellt man fest, daß die Art in sehr verschiedenen Größen überwintert, daß aber alle diese zur Überwinterung schreitenden Tiere aus demselben Jahre stammen und alle im folgenden Jahre reif werden, man also die Lebensdauer auf 1 Jahr festsetzen muß.“

beschleunigte Entwicklung einzelner Individuen aus der Fröhjahrs- und Herbstnachkommenschaft erklären.

Wenn nun interspezifische Konkurrenz oder eine klimatische Veränderung zur Teilung dieser eurychronen Fortpflanzungsperiode zwingt,

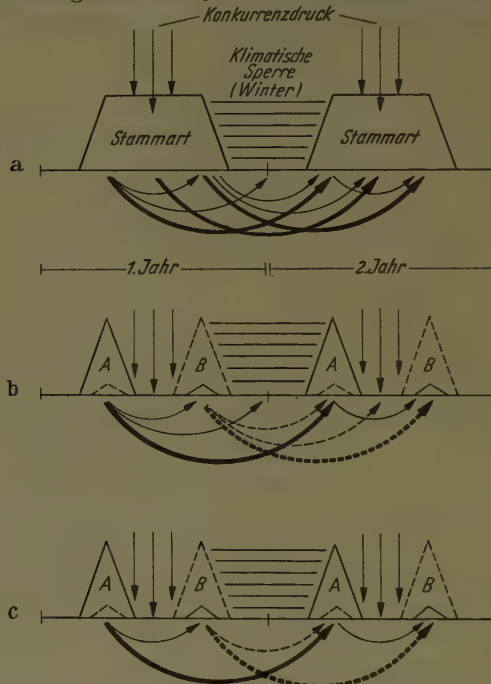


Abb. 24. Schema des Verlaufs einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation nach dem Modus der reziprok-diplochronen Periodizität. (Die vereinfachten phänologischen Kurven sind in 2 aufeinanderfolgenden Jahren dargestellt.) Stadium a: Die Stammart hat eine über das Sommerhalbjahr reichende Fortpflanzungsperiode. Die überwiegende Mehrzahl ihrer Individuen (dicke Pfeile) benötigt zu ihrer Entwicklung ein volles Jahr, bei einem kleinen Teil der Individuen (dünne Pfeile) aber kann die Entwicklungsdauer soweit verkürzt sein, daß die im Fröhjahr erzeugten Nachkommen schon wieder im Herbst geschlechtsreif sind. Stadium b: Diese eurychrone Fortpflanzungsperiode der Stammart wird durch (angenommenen) Konkurrenzdruck seitens einer oder mehrerer Arten in die Populationen A (ausgezogene Kurven und Pfeile) und B (gestrichelte Kurven und Pfeile) zerlegt. Der Großteil der A-Population schreitet jeweils im Fröhjahr, der der B-Population im Herbst zur Fortpflanzung (Primärperioden); ein kleiner Teil von beiden Populationen entwickelt sich schneller. Stadium c: Unter diesen Individuen mit verkürzter Entwicklungsdauer fallen diejenigen, die in den Sommer oder Winter treffen, im Laufe der Zeit der Konkurrenz bzw. der klimatischen Sperre zum Opfer oder erfahren durch letztere eine Entwicklungsverzögerung bis zum Fröhjahr. Nur diejenigen Individuen, die bei kürzester Entwicklungsdauer jeweils in das Fröhjahr (B-Individuen) oder in den Herbst (A-Individuen) fallen, können sich in geringem Umfange erhalten. Ihr Auftreten erklärt die Sekundärperioden, die jeweils mit den Primärperioden der anderen Population zusammenfallen. (Weitere, aus dem Vorjahr kommende und in das folgende Jahr weisende Entwicklungspfeile sind in dem Schema weggelassen.)

erfahren nach der S. 74 gegebenen Erklärung die früher oder später reifenden Individuen der zeitlichen Randzonen einen selektiven Vorteil, die Lage ihrer neuen, randständigen Fortpflanzungszeiten wird selektiert, es kommt nach und nach zur jahreszeitlichen Isolation und

Bildung zweier getrennter biologischer Rassen, deren eine nunmehr im Frühjahr, deren andere im Herbst zur Fortpflanzung schreitet und sich — dem ursprünglichen Rhythmus entsprechend — normalerweise einjährig entwickelt. Die ursprüngliche Möglichkeit und vielleicht auch Tendenz zu verkürzter Entwicklungsdauer aber steckt noch in beiden Arten. So erlangen wie ursprünglich einzelne Individuen der Frühjahrsart noch im Herbst, der Herbstart schon im Frühjahr die Geschlechtsreife. Ihr Auftreten erklärt die Sekundärperioden. *Die konstante Lage dieser Sekundärperioden resultiert einerseits aus der physiologisch möglichen Minimalzeit für die Entwicklung zur Geschlechtsreife, die diese Arten unter günstigen Außenbedingungen benötigen, wobei die kürzeste Entwicklung der Herbstart durch den Einfluß des Winters länger dauert als die der Frühjahrsart; sie wird andererseits durch Konkurrenzdruck im Sommer und eine jahreszeitliche Sperre im Winter festgelegt und durch laufende Ausmerzung zwischenzeitlich auftretender Individuen genetisch fixiert* (Abb. 24b und c).

Wenn nun bei *Agroeca proxima* die Sekundärperiode nur noch im weiblichen Geschlecht angedeutet ist, so liegt die Annahme nahe, daß es sich hier um einen „Abbau“, eine *Unterdrückung der Sekundärperiode* handelt, wobei ein ursprünglicher Eurychronismus und eine frühere Periodizität bei ♀♀ länger erhalten bleibt (vgl. TRETZEL 1954). Diese Unterdrückung wäre im Sinne einer fortschreitenden genetischen Befestigung des genau einjährigen Entwicklungsrhythmus bei laufender Vernichtung aller Individuen, die die Potenz zur Frühentwicklung noch rezessiv in sich tragen, durchaus verständlich. Sie kann vor allem dadurch notwendig werden, daß die Individuen zur Zeit der Sekundärperiode zunehmender interspezifischer Konkurrenz durch gleichartige Lebensformtypen begegnen. Und da die überwiegende Mehrzahl der Spinnen im Mai zur Fortpflanzung schreitet, könnte diese Konkurrenz nicht nur bei *Agroeca proxima* wirksam gewesen sein, sondern neben der oben genannten Wirkungsweise abiotischer Faktoren auch bei *Coelotes atropos* einen Einfluß auf die geringe Entfaltung der Sekundärperiode im Frühjahr ausüben. So gesehen, wäre es verständlich, daß sich zu vielen singulären Arten diplochroner Spinnen, die ebenfalls durch jahreszeitliche Isolation entstanden sind, die Schwesterarten nicht mehr finden lassen, weil deren Sekundärperiode kaum mehr durch das Auftreten von ♀♀ angezeigt ist und solche Formen unter der Vielzahl eurychroner Arten verborgen bleiben.

Umgekehrt kann auch ein sekundärer *Ausbau der Sekundärperiode* durch eine Reihe von Faktoren begünstigt werden. Als wesentliches Kriterium eines solchen „Ausbaues“ wäre die Wiederaufnahme der Fortpflanzungstätigkeit zu dieser Zeit anzusehen. Diese Sekundärerwerbung wäre dadurch leicht denkbar, daß sich mit der verkürzten Entwicklung auch eine frühere Paarungsbereitschaft verbunden hat.

Der Gedanke, daß die Sekundärperiode und damit die verkürzte Entwicklungsdauer eine Neuerwerbung *stenochroner* Arten sein könnte, wäre aber sicher abwegig, da damit keine Erklärung für die Lücke zwischen den Perioden gegeben werden könnte, sondern eine einfache Erweiterung der Fortpflanzungsperiode erwartet werden müßte.

Im *Entwicklungsgang* dürfte sich die Sekundärperiode (wenigstens ursprünglich und bei einem Teil der Arten) so ausdrücken, daß diese einjährigen Arten, die im Frühjahr bzw. Herbst ihre Fortpflanzungszeit (Primärperiode) haben, normalerweise im Stadium vor der Reifehäutung überwintern bzw. übersommern. Nur ein kleiner Teil der Individuen macht zur Zeit der Sekundärperiode (gewissermaßen als Atavismus) schon die Reifehäutung durch. In entsprechender Weise ist auch das wiederholt beobachtete Auftreten von Novemberkitzen bei Rehen als Atavismus einer ursprünglich kontinuierlichen Embryonalentwicklung anzusehen, die heute als klimabedingte Anpassung normalerweise vom Hochsommer bis Ende Dezember stagniert (CASPERS 1949).

Die postembryonale Entwicklung dieser Arten ist leider noch nicht genauer bekannt und wird von mir zur Zeit im Züchtungsverfahren untersucht, doch ist dabei von vornherein fraglich, ob in Gefangenschaft so optimale Verhältnisse geschaffen und so reichhaltiges Futter geboten werden kann, daß die in Rechnung gestellte Potenz zu einer wesentlich verkürzten Entwicklung von einem Teil der Individuen auch realisiert werden kann¹. Im Rahmen dieser Untersuchungen konnte inzwischen für *Coelotes atropos* schon einwandfrei nachgewiesen werden, daß zur Zeit der Sekundärperiode Eiablagen stattfinden. Diese Feststellung einer Fortpflanzungstätigkeit in der Sekundärperiode schließt aber meines Erachtens nicht aus, daß früher eine Speziation dieser Arten durch jahreszeitliche Isolation möglich war. Heute wird eine Kreuzung dieser Schwesterarten durch ausreichende morphologische Differenzierung verhindert, zur Zeit des Artbildungsprozesses aber können in erster Linie folgende Faktoren einer Panmixie entgegengewirkt und die Differenzierung begünstigt haben:

¹ *Anmerkung während der Korrektur:* Als vorläufiges Ergebnis dieser Untersuchung kann hier noch mitgeteilt werden, daß einzelne ♂♂ und ♀♀ von *Coelotes inermis*, die aus einem am 26. Mai 1955 (Primärperiode!) abgelegten Eipaket am 18. Juni geschlüpft sind, bereits gegen Ende August dieses Jahres das Stadium vor der Reifehäutung erreicht haben und ihre übrigen Geschwister um mindestens ein Viertel übertreffen. Ihre Reifehäutung, die in der 2. Septemberhälfte zu erwarten ist, wird genau in die Sekundärperiode dieser Art fallen (vgl. Abb. 19, S. 132). Die hier angenommene rasche Entwicklung einzelner Individuen ist also auch in Gefangenschaft unter Temperaturverhältnissen, die dem Freiland entsprechen, möglich. Der genaue Entwicklungsverlauf dieser Art wird nach Abschluß der Untersuchung veröffentlicht werden.

1. Eine Panmixie zwischen vorzeitig reifen Individuen der Herbstpopulation B (vgl. Abb. 24) mit normal entwickelten Individuen der Frühjahrspopulation A konnte nicht stattfinden, da die frühreifen Individuen B noch nicht die volle Paarungsbereitschaft besessen haben.

Wie maßgebend dieser Faktor für die zeitliche Begrenzung der Fortpflanzungstätigkeit ist, zeigt folgendes Beispiel: Bei der brasilianischen Ctenide *Phoneutria fera* (PERTY), deren Entwicklung ich bei der Aufzucht studieren konnte, erreichen die ♀♀ in Gefangenschaft ein Alter von 4—5 Jahren, die ♂♂ hingegen nur von 5—6 Monaten; und während dieser Zeit beträgt die Paarungsbereitschaft der ♂♂ nur 8—12 Wochen.

2. Falls auch bei frühentwickelten Individuen sofortige Paarungsbereitschaft bestanden haben sollte, blieben die Mischlinge AB in solcher Minderzahl, daß der Differenzierungsprozeß durch sie nicht unterbunden werden konnte. Diese Minorität, die einmal schon rein zahlenmäßig gegeben war, könnte weiter dadurch gesenkt worden sein, daß vorzeitig reife A-Individuen in ihrer Sekundärperiode einer sehr starken Konkurrenz seitens der in ihrer Primärperiode quantitativ weit überlegenen und wahrscheinlich auch besser adaptierten B-Individuen begegnet sind (und umgekehrt). Außerdem dürften die frühentwickelten Individuen, die beispielsweise der warmadaptierten Sommergeneration entstammten, im kühleren Frühjahr allgemein eine geringe Aktivität entwickelt haben und daher ohnedies sehr selten zur Paarung gekommen sein. Und schließlich würde sich das Auftreten von Mischlingen außer in einer Verwischung morphologischer Merkmalsprägung auch physiologisch in einer größeren Streuung der Entwicklungsgeschwindigkeit ausgedrückt haben, die aber einerseits durch Konkurrenz zwischen den Perioden, andererseits durch eine klimatische Sperre laufend wieder korrigiert worden ist.

Für die Deutung, daß obengenannte Arten paarweise durch jahreszeitliche Isolation entstanden sind, sprechen noch folgende Feststellungen:

1. Die Schwesterarten sind nächstverwandt.

2. Sie haben paarweise gleichen ökologischen Charakter und ein weitgehend übereinstimmendes Verbreitungsgebiet. Je eine Art der Paare zeigt eine größere lokale Ausbreitung bei gleichem ökologischen Verbreitungsschwerpunkt beider. Diese Verbreitung innerhalb des Untersuchungsgebietes spiegelt genau die allgemeine geographische Verbreitung wider.

Die beiden *Coelotes*-Arten beispielsweise besitzen ihr ökologisches Verbreitungszentrum innerhalb des Untersuchungsgebietes in den geschlossenen Laub- und Nadelholzwäldern besserer Bonität auf Lehmboden und kommen hauptsächlich in höheren Lagen vor. Während *C. inermis* im wesentlichen auf die höher gelegenen Gebiete beschränkt bleibt, zeigt *C. atropos* eine weitere Ausbreitung in die Ebene und damit in die Föhrenwälder auf Sandboden. Geographisch gesehen haben beide Arten ihren Verbreitungsschwerpunkt in den Berggegenden Deutschlands und

sind über ganz Mitteleuropa verbreitet. Während aber *C. inermis* auf das Festland beschränkt bleibt, ist der euryvalentere *C. atropos* bis nach Südengland und Makedonien vorgedrungen (DRENSKI 1921; M. DAHL 1931; LOCKET und MILLIDGE 1953).

In dieser weiteren Ausbreitung der einen Art kann man eine zusätzliche räumliche Ausweichbewegung erblicken, die vielleicht gerade bei diesen schnellwüchsigen Arten, bei denen die Konkurrenz auch im subadulten Stadium stärker ins Gewicht fällt, notwendig wurde.

3. Bei den genannten Artenpaaren handelt es sich um Vertreter sehr verschiedenartiger Familien, die nur das eine gemeinsam haben, daß sie terrestrisch und vagant leben. Würden die Paare näher verwandt sein, so könnte man an die gemeinsame biologische Eigenart einer Gruppe denken, womit freilich nichts weiter erklärt wäre. Da es sich aber um Vertreter verschiedener Familien handelt, ist es wahrscheinlich, daß eine Artbildung durch jahreszeitliche Isolation bei den verschiedensten Spinnenfamilien stattgefunden hat, aber nur noch bei einzelnen — vielleicht phylogenetisch jüngsten — Arten in solcher Weise feststellbar ist.

4. Wir kennen eine Reihe von Arten mit mehr oder minder ausgeprägter diplochrone Reifezeit, aber es war noch keine Art festzustellen, bei der die Reifezeit auf zwei gleich starke Perioden verteilt ist. Immer zeigt sich eine Differenzierung in Primär- und Sekundärperiode. Dies legt die Annahme nahe, daß zumindest ein Großteil der Arten mit wohldifferenzierter diplochrone Reifezeit durch jahreszeitliche Isolation entstanden ist; nur ließen sich zu den übrigen Arten die korrespondierenden Schwesterarten noch nicht finden. Diese fehlen entweder im Untersuchungsgebiet (was auf den Begleitmechanismus oder die spätere Wirksamkeit einer geographischen Isolation deuten könnte) oder ihre Sekundärperiode trat aus Materialmangel bzw. fortgeschrittenen „Abbaues“ nicht deutlich in Erscheinung.

Für diese Auffassung sprechen aber insbesondere auch die folgenden, bemerkenswerten Gegenbeispiele. Es finden sich nämlich noch zwei nächstverwandte Artenpaare mit diplochrone Reifezeit, deren Primär- und Sekundärperioden aber gleichsinnig liegen und sich decken: *Trochosa terricola* und *spinipalpis* (Abb. 25) und (soweit sich mit anderen Fangmethoden feststellen ließ) *Aranea foliata* und *dumetorum*. Allerdings ist die schwache Sekundärperiode bei *T. spinipalpis* nur noch durch vereinzelte ♂♂ und wenige ♀♀ angezeigt. Diese Arten haben also gleiche Fortpflanzungsperioden, sind aber ökologisch streng gesondert: sie vikariieren. Bei diesen Fällen ist die Annahme am wahrscheinlichsten, daß sich die Stammart eines Paares durch jahreszeitliche Isolation von einer unbekannten, älteren Art getrennt hat, wobei diese im Herbst, jene im Frühjahr Primärperiode hatte und wie bei den *Coelotes*-Arten reziprok liegende Sekundärperioden ausgebildet waren.

Aus der Fröhjahrsart aber differenzierten sich dann durch *geographische Isolation* die rezenten Deszendenten *Trochosa terricola* und *spinipalpis*. Daher zeigen diese beiden Arten gleiche Lage und Ausbildung der Perioden, schließen sich aber ökologisch aus. Hier liegen also interessante Gegenbeispiele zu den oben genannten 3 Paaren vor: bei diesen gleiche Standortsansprüche, aber reziprok liegende Primärperioden; bei jenen gleichsinnige Lage der Primärperioden, aber ökologische Vikarianz. Entsprechend scheinen die Verhältnisse bei einigen Carabidenarten zu liegen (vgl. S. 154). Und gerade diese Gegenbeispiele machen es wahrscheinlich, daß zumindest bei den Spinnen, vermutlich aber auch bei anderen Tiergruppen, vor allem Räubern, die Artbildung durch geographische und jahreszeitliche Isolation unabhängig neben und nacheinander stattgefunden hat. Und es liegt auf der Hand, daß gerade bei räuberischen Formen, bei denen sich auch die *intraspezifische Konkurrenz* unmittelbarer auswirkt, die verschiedenartigen Sonderungsmöglichkeiten, voll ausgenutzt, zu Isolationsmechanismen werden und einen Artbildungsprozeß einleiten können.

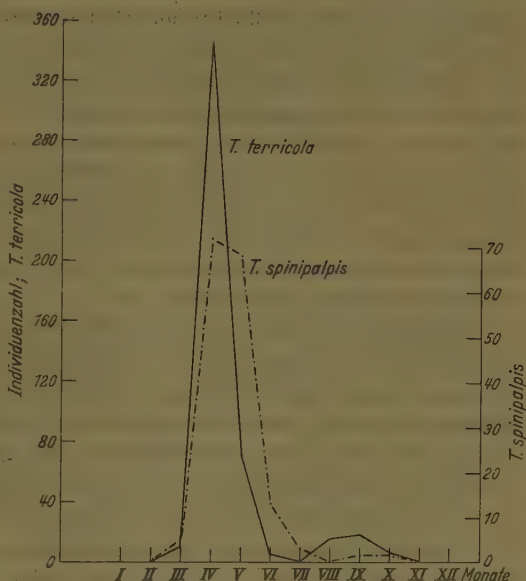


Abb. 25. Phänologie der ♂♂ von *Trochosa terricola* und *spinipalpis*. Wegen der sehr unterschiedlichen Fangziffern ist für jede Art ein gesondertes Ordinatensystem verwendet.

Ein weiterer Fall einer offensichtlichen Speziation durch jahreszeitliche Isolation scheinen mir die Araneiden *Meta reticulata typica* und *Meta reticulata mengei* zu sein.

Die Autoren, die sich systematisch näher mit den Araneiden befaßt haben, sind sich noch im unklaren, ob *mengei* als Varietät oder als Unterart aufzufassen ist (vgl. WIEHLE 1931, S. 123; LOCKET und MILLIDGE 1953, S. 117).

Beide Formen leben im gleichen Biotop und suchen feuchte, schattige Gebiete, doch hat *mengei* im Frühjahr, *typica* im Herbst Reifezeit. Die Herbstform ist zu dieser Zeit so zahlreich, daß sie als *die Herbstspinne* schlechthin bezeichnet wird. Nach unseren früheren Überlegungen

über die Bedeutung der „zeitlichen Nische“ (S. 96) nimmt es nicht wunder, daß die Herbstform die größere Produktion zeigen kann, da sie zu dieser Zeit geringerer Konkurrenz seitens anderer Spinnenarten begegnet. Schon BERTKAU und später SIMON (1929) haben die beiden Formen als jahreszeitliche Varietäten aufgefaßt. Wir dürfen nun annehmen, daß beide Formen durch jahreszeitliche Isolation nach dem Modus der reziprok-diplochronen Periodizität entstanden sind und daß wenigstens bei einer der beiden noch eine Sekundärperiode festzustellen ist. Tatsächlich berichtet SIMON (1929, S. 654, Fußnote): „*M. Mengei* se trouve surtout au printemps, mais il a été à tort considéré comme une forme vernale de *M. segmentata* (= *reticulata typica*), car j'ai plusieurs fois observé les deux en automne“. Es ist also möglich, daß sich beide Arten auch bei uns zu ihrer vermutlichen Sekundärperiode finden lassen. Da sie aber wesentlich leichter durch ihre differente Reifezeit als morphologisch zu unterscheiden sind, könnten sie miteinander verwechselt worden ein.

Es ist nun sehr naheliegend, bei der Annahme einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation mit der *Konkurrenzwirkung seitens einer unbekannten Art* zu rechnen. Diese könnte heute längst weiterdifferenziert, ausgestorben oder auf Verbreitunginseln beschränkt sein und quantitativ nicht mehr ins Gewicht fallen. Die Rechnung mit einer Unbekannten ist aber keineswegs aus der Luft gegriffen. Sehen wir die Liste der den obenerwähnten *Coelotes*-, *Zelotes*- und *Agroeca*-Arten nächstverwandten Spezies durch, so stellen wir zunächst fest, daß weitere Gattungsvertreter im hiesigen Gebiet fehlen oder ökologisch gesondert sind oder zahlenmäßig so spärlich in Erscheinung treten, daß sie (zumindest heute) als ernsthafte Konkurrenten ausscheiden. Doch findet sich wenigstens innerhalb der Familien Agelenidae und Gnaphosidae je eine Art, die wegen ihrer gleichartigen Standortsansprüche, ihrer terrestrisch-vaganten Lebensweise und ihrer ungefähren Körpergröße als Konkurrenz in Betracht käme: *Histoipona torpida* (Agelenidae), *Drasodes umbratilis* und *signifer* (Gnaphosidae). Es ist nun sehr auffallend, daß die stenochrone Reifezeit dieser Arten ausgerechnet in die sommerliche Lücke zwischen den diplochronen Perioden der anderen Arten fällt. Damit soll nun keineswegs behauptet werden, daß diese Arten es gewesen sein müßten, die die Stammarten der anderen zur Teilung ihrer Fortpflanzungsperiode gezwungen haben; doch weisen diese Beispiele von sich aus auf die Möglichkeit und Wahrscheinlichkeit einer Konkurrenzwirkung durch eine andere Art hin. Auch zu den Artenpaaren mit gleichsinnig-diplochroner Periodizität (die *Trochosa*- und *Aranea*-Arten) finden sich, sogar innerhalb der Gattung, nächstverwandte Vertreter, deren Kopulationszeit in die Lücke der diplochronen Periode fällt: *Trochosa ruricola* und *Aranea undata*.

Gerade die letztgenannte Art ist in dieser Hinsicht besonders bemerkenswert. Wie schon erwähnt, werden die Arten *foliata*, *dumetorum*, *undata* und *ixobola* wegen ihrer nahen Verwandtschaft innerhalb der Gattung *Aranea* zu einer systematisch-biologischen Gruppe zusammengefaßt. Während nun *foliata* und *dumetorum* auffallende Formen des freien, unbesiedelten Geländes sind, besetzt *undata* Brücken und Gebäude im Bereich fließender Gewässer. Ursprünglich muß auch diese Art eine Bewohnerin unbesiedelten Gebietes gewesen sein. Sie dürfte hygrophil und wahrscheinlich ziemlich stenovalent thermophil reagieren. Aus letzterer Eigenschaft erklärt sich ihr stenotoper Aufenthalt in der Nähe menschlicher Bauwerke. So kennen wir einige südeuropäische Arten, die in unserem Gebiet an Hauswänden Wärmeschutz suchen (*Zilla litterata*, *Theridium blackwalli*, *Dictyna viridissima*), worauf vor allem WIEHLE an entsprechender Stelle hingewiesen hat. *Undata* scheint aber keine ausgesprochen südliche Form zu sein; dagegen spricht ihre bis Nordamerika und Asien reichende Verbreitung. Eine gewisse Stenothermie äußert sich aber darin, daß sie gegen Norden zu immer seltener wird. Sie kommt noch in Süd-Norwegen vor, fehlt aber in Finnland (WIEHLE 1931, S. 92). Es wäre also denkbar, daß ursprünglich in wärmerem Klima bei uns *undata* dominant war und ihre vielleicht weniger voll adaptierte „Konkurrentin“ (die Stammart von *foliata* und *dumetorum*) zur Teilung ihrer Fortpflanzungsperiode gezwungen hat. Im Verlaufe einer klimatischen Veränderung (Abkühlung) nun, die sich für *undata* ungünstig, für die Konkurrentin aber vorteilhaft auswirkte, ging *undata* im Bestande stark zurück und wurde ihrer Stenothermie entsprechend sekundär zur Kulturfolgerin, während die Produktion der Schwesterart so wuchs, daß die intraspezifische (oder kombinierte) Konkurrenz mit der Zeit eine ökologische Trennung notwendig machte, als deren Deszendenten *foliata* und *dumetorum* entstanden sind. *Undata* und *ixobola* aber sind nach den bisherigen Feststellungen geographische Vikarianten. *Ixobola* wird von WIEHLE (1931, S. 92) als Ostform aufgefaßt, die in östlichen Gebieten stellenäquivalent *undata* ist. Sie zeigt dort (soweit bekannt) gleiche Lebensweise, gleiche ökologische Spezialisierung und vermutlich gleiche Reifezeit.

Es darf abschließend noch bemerkt werden, daß diese hier dargelegte Auffassung für einen Artbildungsvorgang spricht, der wohl theoretisch verschiedentlich in Rechnung gestellt wurde, dessen ausreichende Isolationswirkung für einen Differenzierungsprozeß aber sehr in Zweifel gezogen wird. Nun werden diesem Problem neue und objektive statistische Unterlagen gegeben. Diese Unterlagen sind deshalb besonders bedeutungsvoll, weil sie mit bisher ungebräuchlichen Fangmethoden gewonnen wurden, die es erlauben, Aktivitätsperioden quantitativ und zeitlich genau zu bestimmen. Meine Ausführungen sind als Deutungsversuch hinreichend gekennzeichnet. Der Beweis, daß in diesen Fällen eine Artbildung durch jahreszeitliche Isolation stattgefunden haben muß, kann — wenn überhaupt — zumindest solange nicht erbracht werden, als die ursprünglichen Verbreitungsgebiete und etwaige heutige geographische Verbreitungsschwerpunkte unbekannt sind. Letztere können sich erst dann in wünschenswerter Klarheit abzeichnen, wenn die Fallenfangmethode allerorts zum Hauptinstrument der Araneologen und Ökologen geworden ist und das Abundanzverhältnis zwischen diesen Schwesterarten zum objektiven Maßstab für die Häufigkeitsunterschiede herangezogen wird. Aus denselben Gründen aber, die einer

Beweisführung hinderlich sind, kann vorerst auch kaum ein Gegenbeweis angetreten werden. Dies soll den Verfasser aber nicht zu unnützen Spekulationen verleitet haben. Eine breitere Diskussion dieses interessanten Phänomens und ein genügender Hinweis auf die Wahrscheinlichkeit einer Artbildung durch jahreszeitliche Isolation schien vielmehr deshalb notwendig, weil diese Fälle — soweit ich sehe — von allen bisher angeführten Beispielen die größte Wahrscheinlichkeit für einen derartigen Artbildungsprozeß haben. Sollte es sich dennoch erweisen, daß auch hier eine geographische Isolation mit im Spiele war, so wird diese vorherrschende Auffassung eine sehr wesentliche Bestätigung erfahren.

VIII. Gründe für die Artkonkurrenz.

Die Artkonkurrenz, die entweder als historische oder rezente Ursache der intragenerischen Isolation angesehen werden muß, läßt sich in 3 Komponenten zerlegen: Nahrungskonkurrenz, Raumkonkurrenz und psychische Faktoren. Die ersten beiden sind so eng miteinander verknüpft, daß sie vielfach zusammen genannt werden. Ihre Trennung erscheint mir aber notwendig. Auch psychische Momente sind zum Teil untrennbar mit diesem Komplex verbunden, wirken aber sicher ebenfalls getrennt.

Die Raumkonkurrenz wächst mit der Bevölkerungsdichte und dem damit entstehenden Nahrungsmangel. Nahrung und Raum hängen also ebenso zusammen wie Nahrung und Populationsdichte. Diese beiden biotischen Faktoren, deren Wirksamkeit in jüngerer Zeit vor allem bei einzelnen pflanzenfressenden Insekten experimentell untersucht worden ist, hat TISCHLER (1947) einer Betrachtung unterzogen und ihren Konnex sehr treffend folgendermaßen zusammengefaßt:

„Nahrung und Bevölkerungsdichte bestehen als biotische Umweltfaktoren unabhängig nebeneinander. Trotzdem weisen sie enge Beziehungen zueinander auf. Einerseits kann nämlich eine Übervölkerung Nahrungsmangel hervorrufen und so ein Faktor die Änderung des zweiten bedingen. Andererseits führt sowohl Einzelhaft durch Freßunlust als auch Übervölkerung durch gegenseitige Störung und gesteigerte Nervosität trotz reichlicher Nahrung die Tiere nicht zur optimalen Ausnutzung derselben, sondern bedingt einen Hungerzustand; schließlich ist damit wieder der Nahrungsfaktor entscheidend. Dies ist der Grund dafür, daß sich außeroptimale Verhältnisse in Nahrung und Populationsdichte in den gleichen Schädigungen der wichtigsten Lebensfunktionen auswirken können.“

Auch TISCHLER hat hier ein psychisches Moment („Freßunlust“, „Nervosität“) als dritten Faktor mit in Rechnung gestellt.

Bei Spinnen spielt dieser Konnex zwischen Nahrung und Raum bei vaganten wie sessilen Formen eine bedeutende Rolle. Die vaganten Arten benötigen zur Deckung ihres Nahrungsbedarfs einen gewissen Jagdbereich. Wird dieser zu klein, dann stören sie sich gegenseitig bei der Jagd. Die sessilen Arten, die ihre Beute mit Netzen fangen, benötigen Raum für ihre Netzfläche, die bei größeren Ara-

neiden (beispielsweise *Aranea undata*) erhebliche Dimensionen erreichen kann. Außerdem stehen geeignete Anheftungspunkte für den weitgespannten Netzrahmen nicht in unbegrenzter Zahl zur Verfügung. Eine gegenseitige Störung dieser Formen ist vor allem dann gegeben, wenn sie nach schubweiser Häutung entsprechend ihrer Tagesrhythmik gleichzeitig neue Befestigungspunkte für ihre nun größeren Netze suchen. Hingegen dürfte eine Raumkonkurrenz bei der Erneuerung der durch den Sturm zerstörten Netze weniger in Erscheinung treten, da die starken Rahmenfäden (Grundgerüst) wohl meist erhalten bleiben und wenigstens von adulten Tieren wieder benutzt werden. Störungen beim Fressen müssen bei vaganten Spinnen deshalb stark ins Gewicht fallen, weil die gefangene Beute lange und in Ruhe ausgesogen wird und manche Arten bei Störung sofort davon ablassen.

Doch deckt sich der Raumbedarf nicht völlig mit dem Nahrungsbedarf. Der Raumbedarf eines Tieres muß nicht mit dem Areal abschließen, das zur Deckung seines Nahrungsbedarfs unbedingt erforderlich ist. Was wir höheren Tieren ohne weiteres zuerkennen, dürfen wir niederen Tieren ohne Beweisführung nicht absprechen. So beanspruchen beispielsweise die meisten Vögel ein weit größeres Brutrevier als aus ernährungsbiologischen Gründen notwendig wäre. Inwieweit eine Spinne durch die Nähe von Art- und Gattungsgenossen auch ohne unmittelbare Beziehung zum Nahrungserwerb gestört wird, ist ein völlig ungeklärtes und damit auch nicht abweisbares psychologisches Problem. Ich glaube aber, daß auch die noch gänzlich unbekannten psychischen Faktoren sehr hoch in Rechnung gestellt werden müssen. Ohne ihre Wirkung ist mancher synökologische Tatbestand unerklärbar. Wenn wir es für möglich halten, daß Individuen einer Art „abgedrängt“ werden, stellen wir damit die Wirkung psychischer Faktoren in Rechnung. Nur den netzbauenden Formen kann bei maximaler Besiedlungsdichte jede Anheftungsmöglichkeit für ihre Netzrahmen genommen sein, wodurch sie zum Abwandern gezwungen werden. Bei vaganten Formen aber kann eine Abdrängung nur durch gegenseitiges Ausweichen auf einige Entfernung zustande kommen. In der Verhaltensweise der Spinnen ist keine Handlung vorgesehen, die andere Individuen durch körperliche Kraftanwendung verdrängt. Die Tiere laufen entweder aneinander vorbei oder fressen sich auf. Es wäre meines Erachtens die Einstellung eines gewissen biozönotischen Gleichgewichtes gerade innerhalb der räuberischen Spinnenfauna undenkbar, wenn die Arten es vorziehen würden, statt anderer Beutetiere einander aufzufressen. Es würden dann alsbald nur noch bestimmte Typen übrigbleiben, unter Tag- und Nachträubern vermutlich jeweils sehr große und sehr kleine Arten. Die großen, weil sie von den kleinen nicht überwältigt werden können, die kleinen, weil sie von den großen schwer gegriffen werden können und nicht in ihr Beuteschema passen. Es ist daher anzunehmen, daß viele Arten, vor allem Angehörige verschiedener Familien, aufeinander neutral ansprechen und — die Gesamtpopulationen ins Auge gefaßt — im natürlichen Biotop einander wenig gefährlich werden. Es

ist bekannt, daß Spinnen in Gefangenschaft auch bei genügendem Nahrungsangebot mörderisch übereinander herfallen. Wenn dies auch in der freien Natur in dem Maße der Fall sein würde, wäre der Fortbestand einer Art kaum garantiert. BRISTOWE (1941, S. 381) ist allerdings etwas anderer Ansicht:

"In the confined space of a box we know that spiders will soon destroy one another, and when we realize that on an acre of land bearing 2000000 spiders the average density is about one spider to every three square inches, we are justified, I think, in assuming that a very large number fall victims to one another... I feel justified in suggesting that an individual during its lifetime runs a greater risk of falling a victim to another spider than to any other single order of living creatures."

Ich glaube hingegen annehmen zu müssen, daß in der natürlichen Biozönose eine gewisse „Neutralität“ zwischen entfernter verwandten biologischen Typen besteht, ein Modus, der sich unter gewissen Bedingungen auch in der Gefangenschaft und selbst unter Artgenossen einstellt. In diesem Zusammenhange dürfte eine Beobachtung interessieren, die vom Verfasser bei der Aufzucht junger Cteniden gemacht wurde und die am besten veranschaulicht, was hier unter „Neutralität“ verstanden werden soll.

Bei der Aufzucht der Jungen aus dem Gelege einer brasilianischen *Phoneutria fera* (PERTY) wurden die etwa 900 Individuen bis zur 4. Häutung in größeren Portionen beisammen gelassen, wobei sie einander in der bekannten Weise dezimierten. Dann wurde eine bestimmte Anzahl der stärksten Exemplare in Einzelgläsern isoliert, der Rest zur Vereinfachung der Zucht in kleineren, ungleichen Gruppen von 15–20 Stück gehalten. Trotz reichlichen Nahrungsangebotes fraßen sich diese assoziierten Individuen zunächst noch weiter auf, bis in jedem Käfig nur noch 5–10 Individuen übriggeblieben sind. Dann aber stellte sich eine Art Gleichgewicht in diesen kleinen Assoziationen ein und es kam über 5 Monate (!) zu keinen Ausfällen mehr, obwohl die Individuen ungleich groß waren. Die Tiere hatten sich offenbar psychisch aufeinander eingestellt. Sie saßen vielfach in gleichmäßigen Abständen über die Käfigwände verteilt, liefen aber auch einzeln umher, wobei sie sich stets in angemessenem Abstand von den übrigen Individuen hielten, auf Bewegung eines Sitzenden stark phobisch reagierten und vielfach mit einem Sprung entwichen. Ihre Freßlust war weit größer als die der isolierten Individuen, trotzdem war der Abstand der Häutung nicht geringer. Eines Tages nun, als die Tiere schon 8 Häutungen hinter sich hatten und etwa zu drei Viertel erwachsen waren, setzte ich in der alleinigen Absicht, einen Ausgleich in der Besatzdichte herbeizuführen, eine Reihe von Individuen in andere Käfige um. Ich ahnte nicht, wie sehr ich damit das Gesellschaftsgefüge stören würde. Anderntags lagen in jedem dieser Sammelkäfige einige Tiere tot am Boden. Es war nicht zu ermitteln, ob die Eingesessenen über die Eingesetzten oder umgekehrt hergefallen waren. Die Opfer waren wohl auf beiden Seiten und das Gleichgewicht stellte sich nur zögernd wieder ein; denn von diesem Eingriff an waren täglich einzelne weitere Ausfälle festzustellen, bis schließlich in dem einen Käfig 4, in dem anderen nur 2 Individuen übriggeblieben, die sich wieder zu vertragen schienen. Weitere Beobachtungen und Kontrollen mit Markierung der Tiere setzte hier zu spät ein. Entsprechende Experimente zur Klärung dieser interessanten Phänomene sind für weitere Zuchten geplant. Diese Beobachtung, die natürlich keine weiteren Folgerungen

zuläßt, ist nur als vorläufige Mitteilung gedacht und geeignet, über die Wirkungsweise und Bedeutung psychischer Momente bei diesen Tierassoziationen ein vorerst wenigstens umrißhaftes Bild zu geben.

Nun begegnen sich im Freilandbiotop sicher sehr zahlreiche Individuen und es ist nicht anzunehmen, daß sich diese auch im kleinsten Areal gegenseitig kennenlernen. Doch dürften die Formen oder, genauer gesagt, *biologischen Typen* (Lebensformtypen nach REMANE 1943) verschieden aufeinander reagieren. In einem früheren Abschnitt konnte gezeigt werden, daß unter den quantitativ hervortretenden Assoziationselementen eines Standortes die eindeutige Tendenz zu einer weitgehenden zeitlichen Sonderung besteht. Dabei sahen wir beispielsweise bei Assoziationstyp 5 (Abb. 12), daß nur die beiden führenden Elemente zeitlich gesondert sind. Die Arten an 3.—6. Stelle fallen zeitlich mit der 2. Art zusammen, zeigen aber untereinander wieder eine strenge Sonderung. Bei den einen (isotopen) Arten, die ganz verschiedenen Familien entstammen mögen, ist eben ein gedeihliches Zusammenleben ohne zeitliche Sonderung auf Dauer nicht möglich, bei den anderen bereitet dieses keine solchen Schwierigkeiten, daß ihre Vermehrungsziffer in niedrigsten Grenzen gehalten würde. *Je verwandter die Typen biologisch und damit meist auch systematisch, je gleichartiger ihr Habitus, ihre Bewegungsweise, die Art ihres Nahrungserwerbs und nicht zuletzt ihr paarungsbiologisches Verhalten, desto feindlicher dürften sie aufeinander reagieren.* Und dieses ist es wohl auch, was CABRERA unter seinem „Ley de incompatibilidad ecológica“ versteht.

Man kann die Bedeutung der Konkurrenz als Ursache der intragenerischen Isolation nicht einfach damit ablehnen, daß man die Sonderungserscheinungen „nur“ als Folge von Artbildungsvorgängen ansieht. Das hieße eine Wirkung ohne Ursache annehmen zu wollen. Und selbst derjenige, der alle ökologischen und jahreszeitlichen Differenzen ohne Konkurrenzwirkung im Verlaufe geographischer Isolation entstanden wissen will, muß angesichts der hier aufgezeigten Gesetzmäßigkeit der intragenerischen Isolation zugeben, daß zumindest ein erbitterter *sekundärer* Konkurrenzkampf die Verbreitung der Arten so lenkt, daß gebietsweise nur ökologisch und zeitlich gesonderte Gattungsvertreter zusammentreffen. Würde dieser nicht bestehen, so wäre zu erwarten, daß bei sekundärer Ausbreitung der durch geographische Isolation entstandenen Arten rein zufällig eine Reihe isotoper und isochroner Arten zusammentreffen und sich auch in gleichem Umfange vermehren könnte. Kann man also einen sekundären Konkurrenzeffekt nicht ablehnen, warum sollte man dann nicht gleich den primären annehmen, der bei der Isolation und Speziation eine unmittelbare und kausale Rolle gespielt hat. Im übrigen liegt es auf der Hand, daß nicht alle Sonderungsvorgänge jenen Grad erreicht haben, der für eine

Artbildung ausgereicht hätte. Gerade bei den zahlreichen kleineren zeitlichen Ausweichbewegungen, bei denen nur die Fortpflanzungsmaxima verschoben sind, wäre der Gedanke an einen entsprechenden Isolationsmechanismus, der zur Artbildung geführt hat, sicher verfehlt. Wenn wir nun derartige Bewegungen mit verblüffender Regelmäßigkeit gerade zwischen Gattungsvertretern und darüber hinaus biologisch verwandten Typen ausgeführt sehen und eine zeitliche Sonderung nur die adulten Tiere zur Paarungszeit betrifft, so muß man annehmen, daß die Gattungsvertreter und biologisch verwandten Typen einander zur Paarungszeit als „Rivalen“ besonders scharf angreifen.

IX. Die intragenerische Isolation in Form einer räumlich-zeitlichen Sonderung bei anderen Tiergruppen.

Die bisherigen Feststellungen intragenerischer Isolation im Tierreich stützen sich hauptsächlich auf die längst bekannte und bei allen Tiergruppen nachweisbare räumliche Sonderung der Arten. Es dürfte aber kaum eine Tiergruppe geben, deren Vertreter ausschließlich räumlich gesondert sind. Diese Beobachtungen können daher nicht ausreichen, um die intragenerische Isolation in ihrem vollen Umfange in Erscheinung treten zu lassen und damit als wirkliche Gesetzmäßigkeit aufzuzeigen. Die Isolationsformen, die als Ergänzung oder Ersatz der räumlichen in Frage kommen, können verschiedener Art sein. So wurde bei isotopen Vögeln eine biologische Sonderung durch verschiedenartige Nahrung, verschiedene Futterzonen oder verschiedene Nistplätze nachgewiesen. Diese Sonderungsformen mögen bei Vögeln genügen. Bei anderen Tiergruppen aber, vor allem wenig nahrungsspezialisierten Formen, dürfte neben der räumlichen der jahreszeitlichen Sonderung die größte Bedeutung zukommen. Für diese Annahme spricht, daß diese Isolationsform zunächst bei Spinnen in solchem Umfange festgestellt werden konnte. Dafür spricht aber insbesondere, daß sich in der ökologischen Literatur verstreut auch bei anderen Tiergruppen Angaben über getrennte Reifezeit bei verwandten und offensichtlich isotopen Arten finden lassen. Doch ist eine weitere Verfolgung dieser Gesetzmäßigkeit in der Regel noch unmöglich, weil entweder die autökologischen Befunde zu wenig präzisiert sind oder auf die genaue Feststellung der Fortpflanzungszeit nicht der nötige Wert gelegt wurde.

Die Gesetzmäßigkeit der intragenerischen Isolation in Form einer räumlich-zeitlichen Sonderung dürfte entsprechend ihrer Notwendigkeit am leichtesten und eindeutigsten bei räuberischen Tiergruppen nachweisbar sein, deren wenig ausgeprägte Nahrungsspezialisierung eine vergleichend ökologische Untersuchung erleichtert. Als solche kommen in Frage: Carabiden, Staphyliniden, Formiciden, räuberische Crustaceen, Chilopoden. Darüber hinaus aber sind diese Sonderungsvorgänge

noch bei einer Reihe weiterer Tiergruppen (beispielsweise Opilioniden, Amphipoden, Isopoden, Diplopoden u. v. a.) zu erwarten. Einige Beispiele mögen meine Annahme berechtigt erscheinen lassen.

Nach LINDROTH (1949) spielen, wie erwähnt, die biotischen Faktoren für die Verbreitung der *Carabiden* eine „untergeordnete Rolle“. Dieser Autor bemerkt (Teil III, S. 560): „Nur ein Fall ist mir bekannt, in dem tatsächlich eine effektive Konkurrenz zwischen Carabidenarten vorzuliegen scheint. Die stärkere Partei heißt hier *Carabus nemoralis*. Im fennoskandischen Gebiet ist er zweifelsohne ein verhältnismäßig später Einwanderer, der sich immer noch in Ausbreitung befindet. In dem Maße, wie er — namentlich in den Umgebungen der Städte — stark zugenommen hat, sind dagegen andere *Carabus*-Arten merkbar seltener geworden. Vor allem gilt dies für *hortensis*, der dieselben Biotope wie *nemoralis* bevorzugt.“ LINDROTH vermutet, daß die *hortensis*-Larve im Frühjahr, wo sie später zur Aktivität erwacht als die *nemoralis*-Imago, eine wehrlose Beute des Käfers wird. Daß bei solcher Annahme aber nicht mehr von einer eigentlichen Konkurrenz gesprochen werden kann, sondern ein Feind-Beute-Verhältnis vorliegt, bemerkt der Autor selbst. Jedoch übersah LINDROTH, daß die beiden isotopen Arten ja nach seinen eigenen Angaben (Teil I, S. 358 und 364) verschiedene Fortpflanzungszeiten haben, weshalb eine interspezifische Konkurrenz nur wenig in Erscheinung treten kann. Dieser Autor nennt *nemoralis* einen „Frühjahrsfortpflanzer“ und berichtet über *hortensis*, daß sein Maximum in Dänemark deutlich im Spätsommer liegt und die größten Fangziffern auf die Zeit zwischen Juni und August fallen. Dieser Fall regt dazu an, sich in der Arbeit von LINDROTH nach weiteren Beispielen einer räumlich-zeitlichen Sonderung zwischen Carabiden umzusehen. Soweit die für diesen Zweck leider nicht immer klar genug gefaßten autökologischen Diagnosen und Feststellungen der Fortpflanzungszeit Schlüsse erlauben, sind von den besser bekannten Arten der Gattung *Carabus* (um nur diese zu überprüfen) *arvensis* und *nitens* als Bewohner von Heideflächen offenbar isotop, aber zeitlich gesondert: *arvensis* pflanzt sich im Frühjahr, *nitens* im Spätsommer fort. Der ebenfalls auf Sandböden lebende *convexus*, dessen Fortpflanzungszeit mit der von *arvensis* zusammenfällt, scheint einen anderen ökologischen Verbreitungsschwerpunkt zu haben. Im offenen Kulturland begegnen sich *auratus* und *cancellatus*. Ersterer hat anscheinend im Herbst biologischen Höhepunkt, letzterer im Frühjahr. *Clathratus* und *granulatus*, zwei Frühjahrsformen, stellen sich in sehr feuchtem Gebiet ein. Dieser konzentriert sich auf den Uferwald, jener auf die Ufervegetation. Besonders interessant ist, daß die 3 typischen Waldarten *coriaceus*, *intricatus* und *violaceus diplochroa* Perioden (Frühjahr und Herbst) haben. Inwieweit die Standortansprüche dieser Arten sich decken, läßt sich

nicht mit Sicherheit entnehmen. *Coriaceus* scheint den Waldrand zu bevorzugen, *violaceus* nach trocken zu tendieren.

Von größtem vergleichenden Interesse ist die statistische Untersuchung von LARSSON (1939) über den Lebenszyklus der *Carabus*-Arten *nemoralis*, *hortensis* und *granulatus*. Den Beobachtungen LINDROTHs entsprechend stellte schon LARSSON fest, daß von den isotopen Arten *nemoralis* und *hortensis* die erstere im Frühjahr, die letztere gegen Herbst ihre Hauptkopulationszeit hat. Doch zeigt nach LARSSON jede der beiden Arten auch eine reziprok liegende Sekundärperiode (in meiner Definition), die jeweils mit der Primärperiode der Schwesterart zusammenfällt. Der nach LARSSON ebenfalls diplochrone *granulatus* aber, dessen Perioden sich mit denen von *nemoralis* decken, ist von dieser Art nach LINDROTH ökologisch gesondert. Es scheinen mir hier also sehr bedeutungsvolle Parallelfälle zu den diplochronen Spinnen vorzuliegen: der Isolationsmodus der isotopen, aber reziprok-diplochronen Carabiden *nemoralis* und *hortensis* entspricht beispielsweise dem der Spinnen *Coelotes atropos* und *inermis*; der Modus der gleichsinnig-diplochronen, aber heterotopen Carabiden *nemoralis* und *granulatus* dem der Spinnen *Trochosa terricola* und *spinipalpis*. Im Gegensatz zu diesen Spinnenpaaren aber, bei denen zwischen Primär- und Sekundärperiode keine adulten ♂♂ aktiv in Erscheinung treten, kommen bei den genannten Carabiden auch in der Zwischenzeit einige Imagines vor, doch geht aus LARSSONs Angaben nicht hervor, ob sich darunter auch ♂♂ befinden. Da LARSSONs Statistik außerdem auf Handfängen beruht, ist es fraglich, ob etwaige, in der Zwischenzeit auftretende ♂♂ aktiv sind und zur Begattung kommen. Für die Deutung einer Entstehung dieser Arten durch jahreszeitliche bzw. ökologische Isolation spricht auch ihr Verwandtschaftsgrad. Die zeitlich isolierten Arten *hortensis* und *nemoralis* sind nach JEANNEL (1941) in der Untergattung *Archicarabus* zusammengefaßt, während der ökologisch isolierte *granulatus* zur Untergattung *Carabus* s. str. gerechnet wird.

Auch bei den Carabiden ist also offenbar die Sekundärperiode als Atavismus im Sinne einer ausnahmsweisen Frühentwicklung einzelner Individuen anzusehen. Sehr interessant ist der Versuch LARSSONs, diese Sekundärperioden zu erklären:

„Die Besonderheit des Lebensbildes von *Carabus granulatus* LINN. liegt darin, daß die junge Generation sich nur in geringem Grade im Spätsommer zeigt. Wie die Käfer diese Zeit verbringen, läßt sich aus dem Material nicht sicher schließen, wahrscheinlich überwintern sie größtenteils in der Puppenwiege, während bei einigen von ihnen eine nur kurzdauernde Wanderung besteht (das kleine Septembermaximum).“ (Vgl. hierzu meine Erklärung der Sekundärperiode im Entwicklungsgang der diplochronen Spinnen, S. 141.)

Bei *nemoralis* aber nimmt dieser Autor zur Erklärung der Sekundärperiode im Spätsommer die Annahme einer Mortalität des „allergrößten

Teiles der alten Käfer im Laufe des Sommers“ zu Hilfe, während „die Wintersterblichkeit der Imagines dieser Art sehr gering ist“. Umgekehrt erklärt LARSSON die im Frühjahr gelegene Sekundärperiode von *hortensis* mit einer großen Wintersterblichkeit der Imagines.

In vermuteter Analogie zu diesen Fällen dürfte auch der oben genannte Diplochronismus der Waldarten *coriaceus*, *intricatus* und *violaceus* in eine (bei isotopen Arten reziprok gelegene) Primär- und Sekundärperiode differenziert sein, was sich wohl nur mit Hilfe von Fallen befriedigend feststellen ließe. Es wäre demnach empfehlenswert, diese Tiergruppe auf die in Rede stehende intragenerische Isolation hin zu überprüfen. Und wenn LINDROTH der Auffassung und Feststellung ELTONS, daß nächstverwandte Arten überwiegend gesondert leben, mit Skepsis begegnet und als Gegenbeweis ins Feld führt, daß in bestimmten feuchten Sonderbiotopen gleich mehrere Arten einer Carabidengattung nebeneinander leben, so wäre einmal noch festzustellen, in welchem Abundanzverhältnis diese Arten dort vorkommen, und zum anderen zu untersuchen, ob es sich bei diesen Standorten nicht um Übergangs- oder Mosaikbiotope (TISCHLER 1951, S. 144) handelt.

Außer den schon eingangs erwähnten Beobachtungen einer jahreszeitlichen Isolation sind der Literatur noch einzelne weitere diesbezügliche Angaben zu entnehmen, die auf diese Sonderungsweise schließen lassen, vom Autor aber in ihrer Bedeutung anscheinend nicht erkannt wurden. DAHL (1921, S. 41) bemerkt, daß die Raupen aller *Argynnis*-Arten an Veilchenarten gebunden seien. „Aber man findet selten zwei oder mehrere *Argynnis*-Arten gleich zahlreich untereinander. Es kommen da eben die schon genannten organischen Faktoren, namentlich die Beschaffenheit des Geländes, hinzu.“ Aus den von DAHL angeführten Beispielen geht hervor, daß bei diesen Schmetterlingsarten neben der ökologischen auch eine zeitliche Sonderung durchgeführt ist, die aber DAHL entgangen ist. Auch hier ist wieder bemerkenswert, daß *Argynnis selene* und *A. dia* zweimal im Jahre Flugzeit haben (Mai—August).

In der Flugtabelle für die *Plecopteren* des Inns von KÜHTREIBER, die ILLIES (1952, S. 593) wiedergibt, finden sich 14 Arten aus 11 Gattungen. Nur 3 Gattungen sind mit je 2 Arten vertreten. Und diese 3 Artenpaare sind jeweils jahreszeitlich gesondert, indem die eine Art im Frühjahr, die andere im Sommer oder Herbst fliegt, während alle übrigen Plecopterenarten nur im Frühjahr Flugzeit haben.

KÄNDLER (1937) fand beim kleinen Sandaal *Ammodytes lancea* (= *tobianus*) zwei Populationen, von denen die eine von März bis Mai, die andere von August bis September Laichperiode hat. Eine weitere Art, deren Verbreitungsgebiet sich mit dem von *lancea* weitgehend überdeckt, nämlich *Ammodytes marinus*, laicht nach KÄNDLER und anderen Autoren im Winter (September bis Februar). Nach den Untersuchungen von

JENSEN (1941) sind aber beide Arten als Subspecies von *A. lancea* anzusprechen, die außer ihrer verschiedenen Laichzeit auch noch ökologisch gesondert sind. In analoger Weise fand RUNNSTRÖM (1936) verschiedene „Laichgruppen“ von *Paracentrotus lividus* in der Bucht von Neapel.

X. Schlußbetrachtung.

Überblickt man die hier mitgeteilten Befunde einer räumlich-zeitlichen Sonderung, so mutet dieses Neben-, Über- und Nacheinander der Arten wie ein großer „Aufmarschplan“ dieser Tiergruppe in dem ihr zur Verfügung stehenden Lebensraum an. Dabei zeigen die Spinnen mannigfache Anpassungen und verraten die durch die interspezifische Konkurrenz bedingte Notwendigkeit, möglichst keinen Lebensraum ungenutzt zu lassen. Schon GERHARD und KAESTNER (1938) bemerken, daß es leichter sei anzugeben, wo Spinnen fehlen, als die Orte ihres Vorkommens zu nennen. Und DAHL (1921, S. 48) sagt über die jährliche Periodizität: „Sie verteilt das Tierleben auf den ganzen Jahresablauf und bewirkt, daß alle Biotope möglichst viel Leben unterhalten können. Fast möchte man die Natur personifizieren und ihr die Absicht unterschieben, möglichst viel Leben zu schaffen.“ Diese starke Ausbreitung war den Spinnen möglich, weil sie unter Zuhilfenahme ihres Spinnvermögens in allen Biotopen und Strata Beute in ausreichender Menge erreichen können. Mit ihrem Spinnvermögen haben sie sich auch ein funktionelles Flugvermögen erworben, das sie in Höhen von 3500 m führen und entsprechend weit verbreiten kann. Durch die geradezu mosaikartig ineinandergreifende räumlich-zeitliche Sonderung hat sich in engem Raume ein biologisches Gefüge eingestellt, das durch den Austausch einiger Arten ins Wanken geraten müßte. Weiteren Einblick in diesen interspezifischen Konnex wird man daher gewinnen, wenn in entfernten Gebieten, wo nur noch ein Teil der hier häufigen Arten stärker vertreten und anderen Arten assoziiert ist, genaue Untersuchungen mit der gleichen, bewährten Methodik angestellt werden. Es wird sich dabei vermutlich zeigen, daß bestimmte der hier besprochenen Arten in Gebieten, in denen sie anderen Arten gegenüberstehen, wenn notwendig auch eine ausweichende Schwerpunktsverlagerung ihrer Fortpflanzungsperiode durchgeführt haben. Die schwierigste Frage, die dabei zu klären sein wird, ist, ob die geringen zeitlichen Ausweichbewegungen schon genetisch fixiert sind oder exogen dadurch zustande kommen, daß durch Konkurrenzeinwirkung die Mehrzahl der Individuen der biologisch schwächeren Art später reift. Ich vermute das erstere und damit auch, daß diese Populationen gebietsweise besondere biologische Rassen darstellen. Diese zeitlichen Ausweichbewegungen über den Weg der Selektion können aber nur solchen Arten gelingen, die gegenüber Temperatur

über die für eine jahreszeitliche Verschiebung erforderliche Reaktionsbreite und genetisch über eine genügende Variabilität in der Entwicklungsgeschwindigkeit verfügen. Soweit diese Voraussetzungen nicht gegeben sind, ist diesen Arten eine quantitative Entfaltung in bestimmten Gebieten auf Dauer unmöglich und kann die ihnen begegnende Konkurrenz für sie zu biotischen Verbreitungsschranken werden, die man bisher im allgemeinen nicht in Rechnung gestellt hat.

Zusammenfassung.

Das Bestreben der Sonderung nächstverwandter Arten, für das ich den Begriff „*Intragenerische Isolation*“ vorschlage, ist in der Biologie schon lange beobachtet und von verschiedenen Autoren zum Gesetz erhoben worden (S. 50). Es wurde aber entweder nur allgemein aus dem „Generischen Koeffizienten“, d. h. dem Verhältnis zwischen Gattungszahl und Artenzahl in einem Biotop, abgeleitet oder an kleinen systematischen Einheiten studiert und hat daher wenig Beachtung oder sogar Ablehnung gefunden. Diese intragenerische Isolation konnte nun erstmals bei einer größeren, artenreichen Tiergruppe in vollem Umfange nachgewiesen werden. Nach eingehenden autökologischen Analysen und genauer statistischer Feststellung der Fortpflanzungszeit wurde bei den *Araneen* offenbar, daß die nächstverwandten Arten entweder räumlich oder zeitlich gesondert leben. Die *räumliche Sonderung* ist als geographische und ökologische Isolation in horizontaler und durch die Besetzung verschiedener Strata in vertikaler Richtung erfolgt (S. 56—69). Für den Vorgang einer schrankenlosen geographischen und insbesondere ökologischen Rassenbildung wird eine anhaltende Abdrängung von Populationsteilen in eine pessimale Randzone durch Konkurrenzdruck angenommen (S. 58—61). Die vertikale Sonderung ist als sekundäre aufzufassen, die nach der horizontalen erfolgt ist. Bei ihr wirken Nahrungsbedarf (Körpergröße) und Fangweise (Beweglichkeit) der Arten zusammen (S. 65—69). Die *zeitliche Sonderung* drückt sich in einer tageszeitlichen und in einer jahreszeitlichen aus (S. 69—74), von denen der letztgenannten die größte und intragenerisch eine ausschließliche Bedeutung zukommt. Sie ist in der Weise durchgeführt, daß die gesamte Fortpflanzungsperiode zweier Arten oder wenigstens deren Höhepunkt jahreszeitlich verschoben ist. Bei vollständiger jahreszeitlicher Sonderung wirkt diese als *Isolationsmechanismus*, der zur *Artbildung* führen kann, deren Ursachen und Verlauf (S. 74) erklärt werden. Von besonderer Bedeutung hierfür sind 3 Artenpaare aus verschiedenen Familien, die paarweise gleiche Standortansprüche haben, aber zeitlich dadurch gesondert sind, daß die Primärperioden ihrer diplochronen Reifezeit reziprok liegen. Umgekehrt gibt es diplochrone Artenpaare mit gleichsinnig liegenden Primär- und Sekundärperioden, aber ökologischer

Vikarianz. Bei diesen Fällen kann wahrscheinlich gemacht werden, daß die Schwesterarten bzw. die Stammart durch jahreszeitliche Isolation ohne Mithilfe einer geographischen Isolation entstanden sind — ein Artbildungsvorgang, für den bisher nur sehr wenige Beispiele gefunden worden sind (S. 131—148). Nur 4 Artenpaare bilden eine eigentliche Ausnahme dieser intragenerischen Isolation und gerade diese Ausnahmen bestätigen wieder die Gesetzmäßigkeit, da für sie eine „Sonderregel“ gilt, die zu erkennen gibt, daß die Notwendigkeit der intragenerischen Isolation nur unter ganz bestimmten Umständen umgangen werden kann (S. 119—121). Bei einigen weiteren Arten, die gleiche Fortpflanzungszeit haben und gleichen ökologischen Charakter annehmen lassen, wird ein isotopes Zusammenleben offenbar durch eine bestehende Konkurrenz verhindert (S. 121—129). Bei einzelnen Spinnenfamilien tritt über die intragenerische Isolation hinaus sogar eine *intergenerische* in Erscheinung. Dies ist dann der Fall, wenn die Vertreter verschiedener Gattungen biologisch (insbesondere ernährungsbiologisch) sehr nahe verwandt sind. Als Ursache für die intragenerische Isolation wird eine wenigstens ursprünglich wirksame *Konkurrenz* angesehen, deren Gründe in Nahrungskonkurrenz, Raumkonkurrenz und in psychischen Faktoren zu suchen sind, wobei hauptsächlich letztere dafür verantwortlich zu machen sind, daß die nahverwandten biologischen Typen besonders feindlich aufeinander reagieren und eine Sonderung notwendig machen (S. 148—152). Auswirkungen der interspezifischen Konkurrenz sind auch ganz allgemein in verschiedenen Erscheinungen der Synökologie zu erkennen (S. 76—98). Unter diesen kommt der „Abundanzstaffelung“ der Assoziationsmitglieder (S. 79) besondere Bedeutung zu. Sie verrät, daß im Kleinstbiotop nur einzelne Arten häufig sind und unter diesen wiederum eine dominiert. Die Untersuchung dieser auffallenden synökologischen Erscheinung führt zu dem Ergebnis, daß die führenden Elemente jeder Assoziation jahreszeitlich weitgehend gesondert sind. Diese Feststellung läßt den Schluß zu, daß eine Art sich nur dort quantitativ voll entfalten kann, wo sie innerhalb der Artengemeinschaft eine „*biologische Nische*“ findet (S. 96). Die Bedeutung dieser biologischen Nische zeigen am besten die winterreifen Arten. Ist eine bestimmte Konstellation abiotischer Faktoren Voraussetzung für das Vorkommen einer Art überhaupt (Verteilung) und gibt der spezifische Wirkungsgrad dieser Faktoren die Möglichkeit zur quantitativen Entfaltung (Produktion), so wird die Stärke dieser Entfaltung durch Konkurrenzfaktoren bestimmt und reguliert (S. 87). Soweit gebietsweise diese biologische Nische von manchen Arten nicht gefunden wird, kann die interspezifische Konkurrenz zu *biotischen Verbreitungsschranken* werden, die man bisher im allgemeinen nicht in Rechnung gestellt hat (S. 157). Die naheliegende Annahme, daß die intragenerische

Isolation in Form einer räumlich-zeitlichen Sonderung auch bei anderen Tiergruppen durchgeführt ist, kann mit einigen Beispielen begründet werden (S. 152—156). Dabei ist es von besonderem vergleichenden Interesse, daß bei Carabiden genaue Parallelfälle zu den diplochronen Spinnen vorliegen (S. 154) und es somit wahrscheinlich ist, daß auch bei ihnen die zeitliche Isolation als Artbildungsmechanismus gewirkt hat. Allgemein konnte in dieser Untersuchung die *Wirksamkeit biotischer Faktoren* in einem bisher weder nachgewiesenen noch angenommenen Umfang aufgezeigt werden.

Literatur.

- ALLEE, W. C., A. E. EMERSON, O. PARK, TH. PARK and K. P. SCHMIDT: Principles of animal ecology. Philadelphia 1949. — ALLEE, W. C., and K. P. SCHMIDT: Ecological animal geography (based on Tiergeographie auf ökologischer Grundlage by the late R. HESSE). New York 1951. — ANCONA, U. DE: Der Kampf ums Dasein. Eine biologisch-mathematische Darstellung der Lebensgemeinschaften und biologischen Gleichgewichte. Berlin 1939. — BARBER, H. S.: Traps for cave-inhabiting insects. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. **46**, 259—266 (1931). — BEAUCHAMP, R. S. A., and P. ULLYOTT: Competitive relationships between certain species of freshwater triclads. J. Ecology **20**, 200—208 (1932). — BIRCH, L. C., TH. PARK and M. B. FRANK: The effect of intraspecies and interspecies competition of the fecundity of two species of flour beetles. Evolution **5**, 116—132 (1951). — BRISTOWE, W. S.: The distribution and dispersal of spiders. Proc. Zool. Soc. Lond. **1929**, 633—657. — The comity of spiders. Ray Soc. London. I. 1939; II. 1941. — CABRERA, Á.: La incompatibilidad ecológica. Una ley biológica interesante. An. Soc. Ci. argent. **114**, 243—260 (1932). — CASPERS, H.: Periodizitätserscheinungen bei Tieren und ihre kausale Deutung. Studium gen. **2**, 78—81 (1949). — CHANDLER, A. C.: The effect of extent of distribution on speciation. Amer. Naturalist **48**, 129—160 (1914). — CHAPMAN, R. N.: Animal ecology with especial reference to insects. New York u. London 1931. — CHYZER, C., u. L. KULCZYNSKI: Araneae Hungariae. Budapest 1891. — CROMBIE, A. C.: On competition between different species of graminivorous insects. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **132**, 362—395 (1945). — Further experiments on insect competition. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **133**, 76—109 (1946). — Interspecific competition. J. Anim. Ecol. **16**, 44—73 (1947). — CROME, W.: Beschreibung, Morphologie und Lebensweise der *Eucta kaestneri* sp. n. (Araneae, Tetragnathidae). Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. **82**, 425—452 (1954). — CUÉNOT, L.: La seiche commune de la Méditerranée; étude sur la naissance d'une espèce. Archives de Zool. **75**, 319—330 (1933). — DAHL, F.: Die physiologische Zuchtwahl im weiteren Sinne. Biol. Zbl. **26**, 3—15 (1906). — Die Lycosiden Deutschlands und ihre Stellung im Haushalte der Natur. Nova Acta Leopold.-Carol. **88**, 175—678 (1908). — Grundsätze und Grundbegriffe der biozönotischen Forschung. Zool. Anz. **33**, 349—353 (1908a). — Grundlagen einer ökologischen Tiergeographie. I—II. Jena: Gustav Fischer 1921. — DAHL, M.: Agelenidae. In DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 23. Jena: Gustav Fischer 1931. — Hahniidae. In DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 33. Jena: Gustav Fischer 1937. — DARWIN, C.: The origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. London 1859. — DIVER, C.: The problem of closely-related species and the distribution of their populations. Proc. Roy. Soc., Lond., Ser. B **121**, 62—65 (1936). — The problem of closely related species living in the same area. In J. HUXLEY,

The new Systematics, S. 303—328. Oxford 1940. — DRENSKI, P.: Spinnen (Araneae) aus Mittel- und Südwest-Mazedonien. Z. Bulgar. Acad. Wiss. **39**, 1—75 (1929). — DOBZHANSKI, TH.: Die genetischen Grundlagen der Artbildung. Jena: Gustav Fischer 1939. — DUFFEY, E., and A. F. MILLIDGE: *Centromerus incilium* (L. KOCH), a linyphiid spider taken near Oxford, with notes on related species. J. Soc. Brit. Entomol. **4** (9), 218—223 (1954). — ENSLIN, E.: Die Höhlenfauna des fränkischen Jura. Abh. naturhist. Ges. Nürnberg **16**, 295—361 (1906). — ELTON, CH.: Periodic fluctuations in the numbers of animals: their causes and effects. Brit. J. Exper. Biol. **2**, 119—163 (1924). — Animal ecology. London 1927 (Auf-lage 1953). — Animal ecology and evolution. Oxford 1930. — Competition and the structure of ecological communities. J. Anim. Ecol. **15**, 54—68 (1946). — FRANZ, H.: Qualitative und quantitative Untersuchungsmethoden in Biozönotik und Ökologie. Acta biotheor. (Leiden) **9**, 101—114 (1950). — GAUSE, G. F.: The struggle for existence. Baltimore 1934a. — Über die Konkurrenz zwischen zwei Arten. Zool. Anz. **105**, 219—222 (1934b). — Untersuchungen über den Kampf ums Dasein bei Protisten. Biol. Zbl. **54**, 536—547 (1934c). — Experimentelle Untersuchungen über die Konkurrenz zwischen *Paramecium caudatum* und *Paramecium aurelia*. Arch. Protistenkunde **84**, 207—224 (1935). — The principles of biocoenology. Quart. Rev. Biol. **11**, 320—336 (1936). — Experimental populations of microscopic organisms. Ecology **18**, 173—179 (1937). — GERHARDT, U., u. A. KAESTNER: Araneae. In KÜKENTHAL-KRUMBACHS Handbuch der Zoologie, Bd. 3, 11.—12. Liefg. 1938. — GISIN, H.: Analyses et synthèses biocénologiques. Arch. Sci. phys.-nat. Genève, Sér. V, **29**, 42—75 (1947). — GISLÉN, T.: Zur Verbreitung und Ökologie von *Rhynchodesmus terrestris* mit Bemerkungen zur Bitemporalität. Arch. f. Hydrobiol. **40**, 667—686 (1944). — GÖSSWALD, K.: Über den Einfluß von verschiedener Temperatur und Luftfeuchtigkeit auf die Lebensäußerungen der Ameisen. I. Z. wiss. Zool. **151**, 337—381 (1938). — GÜNTHER, K.: Über Evolutionsfaktoren und die Bedeutung des Begriffes der „Ökologischen Lizenz“ für die Erklärung von Formenerscheinungen im Tierreich. Ornithologie als biol. Wissenschaft (Festschr. E. STRESEMANN), S. 23—54. Heidelberg 1949. — Ökologische und funktionelle Anmerkungen zur Frage des Nahrungserwerbes bei Tiefseefischen mit einem Exkurs über die ökologischen Zonen und Nischen. Moderne Biologie (Festschr. H. NACHTSHEIM), S. 55—93. Berlin 1950. — HEBERER, G.: Die Evolution der Organismen. Jena: Gustav Fischer 1943. — HESSE, R.: Tiergeographie auf ökologischer Grundlage. Jena: Gustav Fischer 1924. — HUXLEY, J.: Evolution. The modern synthesis. London 1948. — ILLIES, J.: Die Mölle. Faunistisch-ökologische Untersuchungen an einem Forellenbach im Lipper Bergland. Arch. f. Hydrobiol. **46**, 424—612 (1952). — JACCARD, P.: Lois de distribution florale dans la zone alpine. Bull. Soc. vaud. Sci. natur. **38**, 69—130 (1902). — JEANNEL, R.: Coléoptères carabiques. In Faune de France, Bd. 39. Paris 1941. — JENSEN, S.: On subspecies and races of the lesser sand eel (*Ammodytes lancea* s. lat.). Biol. Medd. Danske Vidensk. Selsk. **16** (9), 1—33 (1941). — KÄNDLER, R.: Beobachtungen über die Laichzeiten der *Ammodytes*-Arten in Nord- und Ostsee. Zool. Anz. **118**, 1—10 (1937). — KAESTNER, A.: Überblick über die in den letzten 20 Jahren bekannt gewordenen Höhlenspinnen. Mitt. Höhlen- u. Karstforsch. **1926**, 126—132; **1927**, 20—31. — KNÜLLE, W.: Die Bedeutung natürlicher Faktorengefälle für tierökologische Untersuchungen demonstriert an der Verbreitung der Spinnen. Verh. dtsh. Zool. Wilhelmshaven. Zool. Anz. **16**, Suppl., 418—433 (1952). — Zur Ökologie der Spinnen an Ufern und Küsten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **42**, 117—158 (1953). — KOCH, L.: Apterologisches aus dem fränkischen Jura. Abh. naturhist. Ges. Nürnberg **5**, 127—170 (1872). — Verzeichnis der bei Nürnberg bis jetzt beobachteten Arachniden. Abh. naturhist. Ges. Nürnberg **6**, 113—198 (1877). — LACK, D.: Habitat selection and speciation in birds. Brit. Birds **34**,

- 80—84 (1940). — Ecological aspects of species-formation in passerine-birds. *Ibis* **86**, 260—286 (1944). — The ecology of closely related species with special reference to cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and shag (*P. aristotelis*). *J. Anim. Ecol.* **14**, 12—16 (1945). — Competition for food by birds of prey. *J. Anim. Ecol.* **15**, 123—129 (1946). — LARSSON, Sv. G.: Der Lebenszyklus der Carabiden. Statistik als Hilfsmittel biologischer Untersuchungen. *Zool. Anz.* **125**, 87—90 (1939). — LESSERT, R. DE: Catalogue des invertébrés de la Suisse, Bd. 3, Araignées. Genève 1910. — LINDROTH, C. H.: Die Fennoskandischen Carabidae. Eine tiergeographische Studie. I.—III. Göteborg 1949. — LOCKET, M. A., and A. F. MILLIDGE: British spiders. Ray Soc. London. I. 1951; II. 1953. — LOHMANDER, H.: Südschwedische Spinnen. I. Gnaphosidae. Göteborgs K. Vet. - o. Vitt. - Samh. Handl., 6. F., Ser. B 2, 1—164 (1942). — LUDWIG, W.: Zur Theorie der Konkurrenz. Die Annidation als fünfter Evolutionsfaktor. Neue Ergebnisse und Probleme der Zoologie. *Zool. Anz.* **145** (Erg.-Bd., KLATT-Festschr.), 516—537 (1950). — MAYR, E.: Systematics and the origin of species. New York 1949. — MAYR, E., E. G. LINSLEY and R. L. USINGER: Methods and principles of systematic zoology. New York u. London 1953. — MILLER, F., u. J. KRATOCHVIL: Ein Beitrag zur Revision der mitteleuropäischen Spinnenarten der Gattung *Porrhomma*. *Zool. Anz.* **130**, 161—190 (1940). — MILLOT, J.: Ordre des Aranéides (Araneae). In GRASSÉ, Traité de Zoologie, Bd. 4, S. 589—743. Paris 1949. — MONARD, A.: La faune profonde du Lac de Neuchâtel. *Bull. Soc. Neuchâteloise Sci. natur.* **44**, 65—236 (1920). — NEISCHL, A.: Die Höhlen der fränkischen Schweiz und ihre Bedeutung für die Entstehung der dortigen Täler. Diss. Erlangen 1903. 95 S. — NIELSEN, E.: The biology of spiders, with especial reference to the Danish fauna, Bd. 1. Kopenhagen 1932. — NØRGAARD, E.: On the ecology of two lycosid spiders (*Pirata piraticus* and *Lycosa pullata*) from a Danish Sphagnum bog. *Oikos* (Københ.) **3**, 1—21 (1951). — ODUM, E. P.: Fundamentals of ecology. Philadelphia u. London 1953. — OSCHKE, G.: Über die gegenwärtig ablaufende Entstehung von Zwillingen- und Komplementärarten bei Rhabditiden (Nematodes). (Fötalisation und Artbildung.) *Zool. Jb. Abt. System., Ökol. u. Geogr.* **82**, 618—654 (1954). — PALMGREN, P.: Ökologische und physiologische Untersuchungen über die Spinne *Dolomedes fimbriatus* (CL.). *Acta zool. fenn.* **24**, 1—42 (1939). — PARK, Th.: Experimental studies of interspecific competition. I. Competition between populations of the flour beetles *Tribolium confusum* and *Tribolium castaneum*. *Ecol. Monogr.* **18**, 265—307 (1948). (Hier weitere Lit. von PARK u. Mitarb.) — PEARSE, A. S.: Animal ecology. New York and London 1939. — PETERS, H. M.: Probleme des Kreuzspinnennetzes. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **36**, 179—266 (1939). — REIMOSER, E.: Katalog der echten Spinnen (Araneae) des paläarktischen Gebietes. *Abh. zool.-bot. Ges. Wien* **10**, 1—280 (1919). — Gnaphosidae—Anyphaenidae—Clubionidae. In DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 33. Jena: Gustav Fischer 1937. — REINIG, W. F.: Elimination und Selektion. Jena: Gustav Fischer 1938. — REMANE, A.: Die Bedeutung der Lebensformtypen für die Ökologie. *Biol. generalis* (Wien) **17** (1943). — RENSCH, B.: Zoologische Systematik und Artbildungsproblem. *Verh. dtsch. Zool.* **1933**, 19—83. — Neuere Probleme der Abstammungslehre. Die transspezifische Evolution. Stuttgart 1954. — ROEWER, C. F.: Katalog der Araneae von 1758—1940, Bd. 1. Bremen 1942. — RUNNSTRÖM, S.: Die Anpassung der Fortpflanzung und Entwicklung mariner Tiere an die Temperaturverhältnisse verschiedener Verbreitungsgebiete. *Bergens Mus. Årb.* **1936**, Nat. Rekke Nr 3. — SCHLOTT, M.: Biologische Studien an *Agelena labyrinthica* (CL.). Diss. Breslau 1931. — SIMON, E.: Les arachnides de France, Bd. 1—5. Paris 1874—1884; Bd. 6, Teil 1, 2. Paris 1914, 1926. — SIMPSON, G. G.: Zeitmaße und Ablaufformen der Evolution. Göttingen 1951. — STAMMER, H. J.: Die Bedeutung der Äthylenglykolfallen für tierökologische und -phänologische Untersuchungen. *Verh. dtsch. Zool.* **1948**, 387—391. — STEERE,

J. B.: The distribution of genera and species of non-migratory land birds in the Philippines. *Auk* **11**, 231—240 (1894). — STRENZKE, K.: Grundfragen der Autökologie. *Acta biotheor.* (Leiden) **9**, 163—184 (1951). — THIENEMANN, A.: Lebensgemeinschaft und Lebensraum. *Naturwiss. Wschr.*, N. F. **1918**, 282—290, 297—303. Die Grundlagen der Biozönotik und MONARDS faunistische Prinzipien. *Festschr. für ZSCHOKKE* Nr 4, S. 1—14. Basel 1920. — Grundzüge einer allgemeinen Ökologie. *Arch. f. Hydrobiol.* **35**, 267—285 (1939). — Vergleichende Beobachtung und Experiment in der Biologie. *Studium gen.* **1**, 303—313 (1948). — Verbreitungsgeschichte der Süßwassertierwelt Europas. Versuch einer historischen Tiergeographie der europäischen Binnengewässer. Stuttgart 1950. — Ein drittes biozönotisches Grundprinzip. *Arch. f. Hydrobiol.* **49**, 421—422 (1954). — THORPE, W. H.: The evolutionary significance of habitat selection. *J. Anim. Ecol.* **14**, 67—70 (1945). — TISCHLER, W.: Nahrung und Populationsdichte als Umweltfaktoren im Tierreich. *Forschgn u. Fortschr.* **21—23**, 114—118 (1947a). — Über die Grundbegriffe synökologischer Forschung. *Biol. Zbl.* **66**, 49—56 (1947b). — Biozönotische Untersuchungen an Wallhecken. *Zool. Jb. Abt. System., Ökol. u. Geogr.* **77**, 283—400 (1948). — Grundzüge der terrestrischen Tierökologie. Braunschweig 1949. — Zur Synthese biozönotischer Forschung. *Acta biotheor.* (Leiden) **9**, 135—162 (1951). — Eignung der Kulturlandschaft für experimentell-synökologische Forschung. *Biol. Zbl.* **73**, 297—305 (1954). — TRETZEL, E.: Ökologie der Spinnen (Araneae) im Raum von Erlangen. Diss. Erlangen 1948. 427 S. In den beiden folgenden Arbeiten auszugsweise veröffentlicht. — Zur Ökologie der Spinnen (Araneae). Autökologie der Arten im Raum von Erlangen. *Sitzgsber. physik.-med. Soc. Erlangen* **75**, 36—131 (1952). — Reife- und Fortpflanzungszeit bei Spinnen. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **42**, 634—691 (1954). — VOLTERRA, V.: Variations and fluctuations of the number of individuals in animal species living together. In CHAPMANN, S. 409—448. 1931. — WAGNER, M.: Die Entstehung der Arten durch räumliche Sonderung. Basel 1889. — WIEHLE, H.: Weitere Beiträge zur Biologie der Araneen, insbesondere zur Kenntnis des Radnetzbaues. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **15**, 262—308 (1929). — Araneidae. In DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 23. Jena: Gustav Fischer 1931. — Neue Beiträge zur Kenntnis des Fanggewebes der Spinnen aus den Familien Argiopidae, Uloboridae und Theridiidae. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **22**, 349—400 (1931a). — Theridiidae, in DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 33. Jena: Gustav Fischer 1937. — Die einheimischen *Tetragnatha*-Arten. *Nova Acta Leopoldina*, N. F. **6**, 363—386 (1939). — Eine übersehene deutsche *Theridion*-Art. *Zool. Anz.* **149**, 226—235 (1952). — Pholcidae—Zodariidae—Oxyopidae—Mimetidae—Nesticidae. In DAHL, Tierwelt Deutschlands, Teil 42. Jena: Gustav Fischer 1953. — WILLIAMS, C. B.: Generic relations of species in small ecological communities. *J. Anim. Ecol.* **16**, 11—18 (1947).

Dr. ERWIN TRETZEL, Erlangen, Zoologisches Institut, Universitätsstr. 19.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Mainz.

ZUR BIOLOGIE UND PHYSIOLOGIE VON *REDUVIUS PERSONATUS* L*.

Von

RICARDA IMMEL.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Oktober 1954.)

Inhalt.

	Seite
A. Einleitung	163
B. Methodik	164
C. Beobachtungen und Versuche zur Lebensweise	164
I. Vorkommen	164
II. Ernährung	165
1. Nahrung und Beutefang. — 2. Hungerversuche. — 3. <i>Reduvius personatus</i> als stechendes Insekt. — 4. Kannibalismus.	
III. Fortpflanzung und Entwicklung	170
1. Kopulation. — 2. Eiablage. — 3. Entwicklung. — 4. Schlüpfvorgang.	
5. Postembryonale Entwicklung und Lebensdauer. — 6. Häutungsvorgang.	
IV. Maskierung und Putzen	185
1. Maskierung der Larven. — 2. Putzhandlungen und Putzvorrichtungen	
D. Versuche zur Sinnesphysiologie	188
I. Lichtsinn	188
II. Chemischer Sinn	190
III. Farbensinn	190
IV. Feuchtigkeitssinn	191
Zusammenfassung	193
Literatur	195

A. Einleitung.

Reduvius personatus L. gehört zu den Landwanzen. Die Familie der *Reduviidae* umfaßt weit über 3000 Arten, die über alle Regionen verbreitet, in den gemäßigten Zonen aber in entschieden geringerer Anzahl vertreten sind als in den Tropen.

Über die Biologie von *Reduvius personatus* L. fehlen bisher ausführlichere Untersuchungsergebnisse. Die bis jetzt mitgeteilten Beobachtungen beruhen nicht auf umfangreichen Zuchten, die alle Entwicklungsstadien der Staubwanzen umschließen.

Einen kurzen Überblick über die ältere Literatur bringt KLEIN-KRAUTHEIM (1932), der in den auf die Erstbeschreibung von LINNÉ folgenden Veröffentlichungen immer neue Widersprüche in bezug auf die Nahrung von *Reduvius personatus* fand. KLEIN-KRAUTHEIM (1932) selbst wies nach, daß die Staubwanzen wenigstens im Experiment Bettwanzen und deren Larven als Nahrung annehmen, aber nicht auf

* Dissertation, Mainz 1954.

diese spezialisiert sind. Weiterhin beschreibt er zum erstenmal den Kopulationsvorgang von *Reduvius* und beobachtet an der abgestreiften Embryonalhülle einen Eischalensprenger.

MADEL (1951) führte die Untersuchungen über die Biologie der Tiere fort, mußte aber nach kurzer Zeit die für Wanzen verhältnismäßig langwierige Zucht aufgeben.

Herrn Prof. Dr. W. v. BUDDENBROCK möchte ich an dieser Stelle für die ständige Betreuung vorliegender Arbeit danken, ebenso Herrn Privatdozent Dr. F. SCHALLER und Herrn Dr. phil. habil. W. MADEL (Chemische Werke, C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim a. Rhein), der die Anregung zu dieser Arbeit gab.

B. Methode.

Die Züchtung und Haltung der Staubwanzen bietet im Hinblick auf die Ernährung einige Schwierigkeiten, da die räuberische Lebensweise von *Reduvius personatus* ein Füttern mit lebenden Tieren verlangt.

Den einzelnen Stadien der Wanzen mußten Insekten von entsprechender Größe als Nahrung geboten werden; so wurden die Imagines und das letzte Stadium in der Hauptsache mit Stubenfliegen gefüttert, während die jüngeren Larven Bettwanzen und deren Jugendstadien als Nahrung erhielten. Zur Abwechslung bekamen die kleinen Staubwanzenlarven *Drosophila* und kleine Fliegenmaden, die adulten Tiere nahmen gerne vollentwickelte Fliegenmaden an. Einzelheiten der Fütterungsversuche mit weiteren Insekten werden noch beschrieben werden.

Die Tiere wurden einzeln in verschiedenen großen Gefäßen gehalten. Für die jüngsten Stadien verwendete ich kleine Petrischalen bis zu 6 cm Durchmesser, für die größeren Larven und Imagines Petrischalen von 20 cm Durchmesser und 5 cm Höhe, außerdem solche von 14 cm Durchmesser.

Die Schalen waren mit Filtrierpapier ausgelegt und entweder zur Hälfte mit schwarzem Papier verklebt, oder sie enthielten einen aus schwarzem Karton angefertigten tunnelartigen Unterschlupf für die Wanzen. Dadurch waren den Tieren möglichst natürliche Bedingungen geboten, da sie normalerweise sehr versteckt leben und sich im Dunkeln aufhalten.

Um die Tiere bei ungefähr gleichbleibender Temperatur (20° C Schwankung) zu halten, wurde bei bestimmten Versuchen ein mit Glühbirnen erwärmter Holzkasten benutzt. In diesem konnte mit Hilfe von drei übereinander angebrachten Glühbirnen von verschiedener Leistung ein Temperaturgefälle erzielt werden. Es ergaben sich so auf drei, nur durch ein Drahtnetz getrennten Etagen drei verschiedene Temperaturen, die allerdings mit schwankender Außentemperatur ebenfalls eine gewisse Schwankungsbreite (bis 20° C) zeigten.

C. Biologische Beobachtungen.

I. Vorkommen.

Die ersten Zuchttiere wurden Ende Juni bis Mitte Juli 1952 auf dem Dachboden eines alten Wohnhauses gefangen. Männchen und Weibchen kamen hier nachts auf das Licht zugeflogen und ließen sich in der Nähe der Lichtquelle nieder. Die meisten verharrten einige Sekunden, manchmal auch mehrere Minuten an der gleichen Stelle. Plötzlich verschwanden sie wie Schatten in irgendeinem dunklen Winkel oder einer schmalen Spalte des Dachgebälkes.

Es ist mir immer nur im Juni und Juli gelungen, *Reduvius personatus* aus seinen Schlupfwinkeln zu locken. Es ist wahrscheinlich, daß sich

die Tiere während dieser Zeit, ihrer frühesten Imaginalzeit, gegenseitig zur Paarung aufsuchen.

Bei der Flugtätigkeit von *Reduvius personatus* spielt die Temperatur eine bedeutende Rolle. In sehr heißen Nächten flogen viel mehr Tiere an als in kühleren. In relativ kühlen Nächten konnten keine anfliegenden Staubwanzen bemerkt werden. Nicht nur eine Abhängigkeit von der Temperatur, sondern auch von der Tageszeit war beim Anflug dieser Insekten zu verzeichnen. Erst nach völligem Einbruch der Dunkelheit zeigt *Reduvius personatus* eine Aktivität.

Versuche, Imagines von *Reduvius personatus* am Tage auf dem Dachboden oder in alten Gebäuden aufzustöbern, blieben immer erfolglos. Die Tiere suchen nach ihrer nächtlichen Tätigkeit die dunkelsten und entlegensten Winkel als Unterschlupf auf. Die zahllosen Ritzen und verborgenen Spalten eines Dachgebälkes sind dazu die besten Vorbedingungen.

Larvenstadien am Tage aufzufinden, ist nicht immer so schwierig, da diese ganz bestimmte Stellen aufsuchen. Sie halten sich meistens in Mauerritzen oder doch wenigstens dort auf, wo feinsten Gesteinsgrus oder sonst irgendeine Schutt- und Staubansammlung anzutreffen ist. An solchen Stellen finden die Larven die Voraussetzungen für die Maskierung. Häufig sind maskierte Larven, die sich kaum vom Untergrund abheben, in dem Schmutz und Staub unter den Fußbodendielen eines Speichers zu finden. Eine kleine, mit diesem Staub maskierte Larve kann beispielsweise beim Kehren eines solchen Bodens aus ihrem Versteck vertrieben werden und die Flucht ergreifen. Sie hat dann vielmehr das Aussehen einer kleinen Spinne als einer Wanzenlarve.

Die adulten Tiere leben noch zurückgezogener als die Larven, die sich wahrscheinlich auf Grund ihrer guten Tarnung auch an weniger geschützten Stellen aufzuhalten vermögen.

Sowohl die Imagines als auch die Larven der Staubwanzen führen ein ausgesprochenes nächtliches und räuberisches Leben. Alle wichtigen Lebenshandlungen, wie das Schlüpfen, die Häutung, die Ernährung, die Kopulation und die Eiablage spielen sich in den Nachtstunden ab. Die Augen von *Reduvius personatus* sind der nächtlichen Lebensweise des Tieres als ausgesprochene Superpositionsaugen angepaßt.

II. Ernährung.

1. Nahrung und Beutefang. *Reduvius personatus* ernährt sich als Vertreter der Raubwanzen ausschließlich von lebenden Insekten.

Es ist verständlich, daß infolge der nächtlichen Lebensweise dieses Räubers noch keine Angaben über die natürliche Nahrung zu finden sind. Mir selbst ist es nie gelungen, eine Staubwanze im Freien beim Beutefang oder beim Fressen zu überraschen. Hat sich erst einmal ein

Opfer gefunden, so wird dieses sehr wahrscheinlich an irgendeinen abgelegenen Platz geschleppt und in aller Ruhe ausgesaugt. In den Zuchtgefäßen jedenfalls zerrten die Wanzen ihre Opfer in die aus Pappe hergestellten Schlupfwinkel und saugten sie dort aus. Fehlten solche Unterschlupfe, so wurde die Beute vor Beginn der Mahlzeit erst einige Male im Zuchtgefäß hin- und hergeschleppt.

Im Experiment nehmen sämtliche Stadien Bettwanzen und deren Larven neben anderen Insekten als Nahrung an, eine deutliche Bevorzugung der Bettwanzen konnte ich nicht feststellen. Daher glaube ich, daß das Gefangenwerden von Bettwanzen nur auf deren Bewegung beruht, wie überhaupt für den Beutefang von *Reduvius* in erster Linie das Bewegtsein seines Opfers ausschlaggebend ist. Sind Bettwanzen in irgendeiner Behausung vorhanden, so wird die Staubwanze ihnen wie anderen hausbewohnenden Insekten nachstellen. *Reduvius personatus* für einen ausgesprochenen Feind und Jäger der Bettwanzen zu erklären, halte ich nicht für richtig.

In den Versuchen wurden neben den schon erwähnten Futtertieren Silberfischchen, Fleischfliegen und deren Maden und auch kleinere lebende Spinnen angenommen. Eine Bevorzugung einer einzelnen Art konnte ich nicht feststellen. Hartgeflügelte Reismehlkäfer, Kornkäfer und Mehlkäfer sind im Experiment in keinem Fall angenommen worden. Dagegen konnten Jugendstadien der Hausgrille überwältigt werden; bei fast erwachsenen Tieren von *Gryllus* war das nicht mehr der Fall. Es muß aber angenommen werden, daß es *Reduvius* trotzdem gelingt, diese Tiere in der Freiheit zu überraschen und sie als Nahrung zu fangen. Kleinere Exemplare der Hausgrille, also deren Jugendstadien, fallen der Staubwanze vermutlich immer zum Opfer.

Aus den Fütterungsversuchen mit den verschiedensten Insekten läßt sich schließen, daß *Reduvius personatus* allen hausbewohnenden Insekten nachstellt. Ausgenommen sind diejenigen, die eine zu dicke und harte Cuticula besitzen, wie z. B. Mehlkäfer oder Reismehlkäfer. Es kann also angenommen werden, daß die Staubwanze zur Dezimierung schädlicher oder lästig werdender Kerbtiere im Hause beiträgt, dagegen aber selbst nicht als stechendes oder blutsaugendes Insekt in Frage kommt, oder zumindest von nur geringer Bedeutung ist, wie an anderer Stelle noch ausgeführt wird.

Der räuberischen Lebensweise der Staubwanzen entsprechend sind der Kopf mit den großen Augen und die Beine gestaltet. Im Gegensatz zu vielen anderen Wanzen ist der Kopf mit den vorgewölbten Augen sehr beweglich und erlaubt dem Tier, ein verhältnismäßig großes Feld zu überblicken und die Bewegungen innerhalb dieses Raumes wahrzunehmen. Der Rüssel ist ebenfalls gut bewegbar, da er beim Beutefang beteiligt ist. Die Vorderbeine von *Reduvius* zeigen eine starke Femur-

muskulatur und können als Raubbeine angesehen werden. Ebenso sind auch die Mittelbeine ausgebildet, die allerdings schon bedeutend dünner sind, während die Hinterbeine normale Schreitbeine darstellen. Die verdickten Vorderbeinpaare sind keine typischen Raubbeine, da sämtliche Beinpaare des Tieres gleichmäßig im Dienste der Laufbewegung stehen. Die beiden vorderen Beine, insbesondere das erste Paar, sind nur zusätzlich am Beutefang und beim Halten des Opfers während des Saugaktes beteiligt.

Das Belauern und Fangen der Beute kann unter Umständen sehr lange dauern. Es kommt dabei auf den jeweiligen Zustand des einzelnen Individuums an. Bietet man gutgefütterten Staubwanzen Nahrung an, so treffen sie meist in den ersten Stunden keine Fangvorbereitungen. Hungrige Tiere überwältigen ihre Beute dagegen oft in den ersten Minuten, ja manchmal in Sekundenschnelle. Der letzte Fall tritt ein, wenn eine Fliege in das Zuchtgefäß eines hungrigen *Reduvius* gebracht wird. Bei dem ersten Flug durch das Glas wird die Fliege von der lauernden Wanze aus der Luft herausgerissen. Dabei macht das Tier einen Sprung nach vorn in die Höhe, wobei es die Vorderbeine vorschleudert und diese dann blitzartig um die erhaschte Beute schlägt.

Normalerweise wurden die Fliegen in den Zuchtgefäßen nicht gleich überwältigt, sondern erst nach mehreren Stunden, meist aber nachts. Während der ersten Zeit kümmert sich die Wanze in keiner Weise um die aufgeregt im Gefäß herumschwirrende Fliege. Plötzlich aber hebt sie den Kopf und folgt durch Drehen und Wenden desselben mit erhobenen Fühlern jeder Bewegung der Fliege, die sich ab und zu niederläßt, um sich zu putzen. Nach etlichen Minuten nähert sich der *Reduvius*, dessen Beine bisher seitlich am Körper flach dem Boden auflagen, mit langsamen und sehr vorsichtigen Bewegungen der gerade sitsitzenden Fliege und fixiert sie in vollkommen unbewegter Haltung. Seine Beine liegen nun nicht mehr seitlich am Körper, sondern sind hoch aufgestellt und die ersten nach vorn sprungbereit ausgerichtet. Die sich putzende Fliege wird plötzlich mit einem einzigen Satz von den Vorderbeinen des Räubers umklammert und mit Hilfe der Mittelbeine gewissermaßen eingeklemmt. Sofort betastet der bewegliche Rüssel das sich angestrengt wehrende Opfer und sticht dann an einer weichen Stelle des Abdomens ein. Erst einige Sekunden nach dem Einstich stellt die durch die Giftwirkung gelähmte Fliege die Bewegungen ein und kann nun von der Wanze ausgesaugt werden.

Reduvius personatus kann bis zu zwei Stunden an dem gleichen Tier saugen, wobei aber mehrere Male neu eingestochen wird. Dabei drehen die Vorderbeine und der Rüssel das Beutetier so, daß es meist wieder quer vor den Kopf der Wanze zu liegen kommt, und die Vorderbeine bequem das Opfer erneut umfassen können. Fliegenmaden werden auf

die gleiche Weise überfallen, nur ist deren Überwältigung für die Staubwanze etwas schwieriger als das Fliegenfangen. Die auf dem Filtrierpapier sich schnell hin und her bewegend Made führt, wenn sie ergriffen ist, sehr starke und heftige Bewegungen aus, die es ihr oftmals ermöglichen, den zupackenden Beinen der Wanze zu entkommen. Letztere schnellst daraufhin erschreckt zurück und macht erst nach einiger Zeit einen erneuten Angriff, wobei sie gleich fester zuschlägt und sofort mit dem Rüssel einsticht. Die zappelnde Fliegenmade ist nun gewissermaßen mit dem Rüssel aufgespießt und kann sich durch ihre heftigen Abwehrbewegungen nicht mehr befreien. Erst einige Sekunden nach dem Einschlagen der Stechborsten macht sich die Wirkung des eingespritzten Giftes bemerkbar, denn das gefangene Tier zappelt noch eine Zeitlang nach dem Einstich stark.

In der Zucht wurden die Staubwanzen täglich mit Futter versehen. Normale Tiere saugten jeden Tag ein Opfer aus. Den verschiedenen Stadien wurden entsprechend große Beutetiere gereicht. An Hand von Versuchen mit Imagines und Larven des letzten Stadiums konnte festgestellt werden, daß diese je Tag durchschnittlich nur ein Tier aussaugten. Eine Ausnahme bildeten die einige Tage vor der Häutung stehenden Tiere, die keinerlei Nahrung zu sich nehmen. Ebenso verhalten sich eierlegende Weibchen anders, indem sie von zwei täglich gebotenen Fliegen meist alle beide aussaugen.

2. Hungerversuche. Die Fähigkeit, längere Zeit ohne Nahrung auszukommen, ist bei den Staubwanzen in hohem Maße vorhanden.

Findet man im Frühjahr die ersten, aus ihren Verstecken zum Vorschein kommenden Larven, so haben sie ein merkwürdig geschrumpftes Aussehen, was auf ein längeres Hungern dieser Tiere zurückzuführen ist. Später im Frühjahr und im Frühsommer gefangene Exemplare zeigen immer einen bedeutend besseren Ernährungszustand. Das besagt, daß diese Larven in der wieder erwachten Insektenwelt der Häuser schon eine Anzahl von Opfern gefunden hatten, die als Nahrung für die bald folgende Imaginalhäutung erforderlich ist.

Tiere des ersten Stadiums wurden bei zwei verschiedenen Temperaturen ohne Nahrung gehalten, während Larven des letzten Stadiums bei normaler Zimmertemperatur (Durchschnitt 20° C) ohne Nahrung blieben.

Bei einer Durchschnittstemperatur von 24° C gehaltene Eilarven lebten ohne jegliche Nahrung 24—30 Tage, wobei das Mittel der Lebensdauer 27 Tage war. Beträgt die durchschnittliche Temperatur 28° C, so vermögen die Eilarven nur 16—19 Tage am Leben zu bleiben.

Larven des letzten Stadiums, bei normaler Zimmertemperatur gehalten, überdauerten ohne Nahrung eine Zeit von 5—6 Monaten. Während dieser Zeit verloren sie zusehends an Umfang und erlangten eine vollkommen flache und geschrumpfte Körperform. Alle diese Hungerversuche wurden bei einer Luftfeuchtigkeit von 60—70 % durchgeführt.

Bietet man solchen ausgehungerten Tieren z. B. eine Stubenfliege an, so wird diese nicht erst lange belauert — wie es normalerweise der Fall ist — sondern sofort mit einem Sprung gepackt und gierig ausgesaugt.

In zwei Fällen konnte beobachtet werden, daß *Reduvius personatus* in der Lage ist, an Warmblütern (Mäusen) Blut zu saugen. Dabei handelte es sich in beiden Fällen um völlig ausgehungerte Larven des letzten Stadiums.

Aus diesem Verhalten ist zu folgern, daß *Reduvius personatus* in der Lage ist, Blut zu saugen.

3. *Reduvius personatus* als stechendes Insekt. Über den schmerzhaften Stich von *Reduvius personatus* beim Menschen bringt MADEL (1951) einige Angaben. Er gibt einen kurzen Überblick über die diesbezügliche Literatur, die die unangenehme Wirkung des Staubwanzenstiches beschreibt. MADEL selbst ließ sich von einem *Reduvius*-Weibchen, das er mit einer Pinzette an den Hinterbeinen festhielt, in den Handrücken stechen. Der Stich schmerzte empfindlich und wird mit der Heftigkeit eines Bienenstiches verglichen. Um die Einstichstelle bildete sich eine Schwellung, die erst nach 30 min zurückging, während der rötliche Hof um den eigentlichen Einstich herum nach drei Wochen noch deutlich sichtbar war. Zu einer Entzündung der Stichwunde kam es nicht. Ein weiteres Stichexperiment an einer zweiten Person verlief in gleicher Weise, nur wurde hier der Schmerz noch heftiger und unangenehmer empfunden.

In allen bekannten Fällen von Staubwanzenstichen beim Menschen handelt es sich um eine Abwehrmaßnahme der Wanzen, die von den Menschen mitunter ganz unbewußt gereizt werden und dann stechen, d. h. *Reduvius personatus* sucht den Menschen sicher nicht aktiv auf, um Blut zu saugen. Bekräftigt wird diese Annahme durch das bei der Häufigkeit der Staubwanzen relativ geringe Vorkommen von Staubwanzenstichen.

4. Kannibalismus. Die Larven der Staubwanzen zeigen einen ausgesprochenen Kannibalismus. Interessanterweise ist er bei den Eilarven am stärksten ausgeprägt, wohingegen er bei den beiden letzten Stadien nicht beobachtet wurde. Letzteres gilt ebenfalls für die Imagines, bei denen nur in einem einzigen Fall ein völlig ausgehungertes Männchen ein soeben sich häutendes und dadurch geschwächtes anderes Männchen überfiel.

Ganz entgegen der Annahme, daß nur ausgehungerte Tiere über ihre Artgenossen herfallen, stellte ich in vielen Versuchen fest, daß auch normal gefütterte Larven dieses Verhalten zeigen. Bei diesen Experimenten wurden in eine große Petrischale zehn Eilarven und gleichzeitig 20 kleine Bettwanzenlarven gebracht. Die *Reduvius*-Larven fielen sich trotz der überreichlichen Nahrung gegenseitig an und nach einigen Tagen waren nur mehr zwei bis drei von ihnen lebend, während noch

eine bedeutend größere Anzahl von Bettwanzenlarven am Leben blieb. Die zur gleichen Zeit in einzelnen kleinen Petrischalen gehaltenen Eilarven nahmen ebensolche Bettwanzenlarven sofort an und saugten sie aus.

Reduvius-Larven des zweiten Stadiums verhalten sich genau wie die Eilarven, dagegen sind diejenigen des dritten Stadiums nicht mehr so ausgeprägt kannibalisch, da sie in den Versuchen erst alle vorhandenen Bettwanzenlarven töteten, ehe sie sich gegenseitig aussaugten.

Larven vom vierten und fünften Stadium lebten Tage und sogar Wochen zusammen in dem gleichen Behälter. Selbst bei wochenlangem Nahrungsentzug gingen sie nicht zum Kannibalismus über. Ganz im Gegenteil konnte ich dabei beobachten, daß die Larven des letzten Stadiums nicht einzeln in den Ecken oder unter Filtrierpapierschnitzeln saßen, sondern sich in Gruppen von zwei bis drei Tieren zusammenscharten. Diese Tatsache gilt aber nur für das letzte Larvenstadium, da die Individuen aller anderen Stadien und auch die Imagines immer einzeln anzutreffen sind.

Der Kannibalismus der Larven von *Reduvius personatus* kann sicherlich mit der Hautbeschaffenheit der Tiere der einzelnen Stadien erklärt werden. Bei dem typischen Fall von Kannibalismus handelt es sich um die beiden ersten Larvenstadien, die beide durch eine sehr dünne, wenig chitinisierte und daher durchscheinende Haut ausgezeichnet sind. Das Stechborstenbündel des überfallenden Tieres kann sich also ziemlich leicht durch die dünne Haut bohren und so dem Opfer das lähmende Gift einspritzen. Die Haut der Tiere des dritten Stadiums ist dagegen schon etwas stärker und bereitet deshalb dem Angreifer mehr Schwierigkeiten. Bei den übrigen Stadien findet sich eine noch festere Körperhülle, die dem Zustechen der Borsten Widerstand leisten kann. Geraten zwei solche Larven in Ausnahmefällen einmal aneinander, so hat das Opfer die Möglichkeit, noch vor Eindringen der Stechborsten und damit des lähmenden Giftes, sich zur Wehr zu setzen. Unter gleichen Partnern entsteht dann ein kurzer Kampf, dem eines der Tiere durch die Flucht ein Ende bereitet. Es liegt deshalb viel näher, daß solche Larven schwächere oder weichhäutigere Insekten als Nahrung bevorzugen.

Es muß hier allerdings noch erwähnt werden, daß größere Larven und auch Imagines über kleinere Larven ihrer Art herfallen, wenn sie solche erreichen können. In keinem Fall aber überwältigte ein adultes Tier die Larve des letzten Stadiums, da diese dem Angreifer an Kraft nicht viel unterlegen ist.

III. Fortpflanzung und Entwicklung.

1. Kopulation. Die Kopulation wurde bisher erst zweimal von KLEIN-KRAUTHEIM (1932) bei angeflogenen Tieren beobachtet. Die

genaue Beobachtung des Kopulationsvorganges war mir sowohl bei angeflogenen als auch bei gezüchteten Tieren vielfach möglich. Die Ergebnisse stimmen mit denen von KLEIN-KRAUTHEIM nur in wenigen Punkten überein. So hat die Kopulation von *Reduvius personatus* kein eigentliches Vorspiel. Wird das Männchen in das Zuchtgefäß des Weibchens gebracht, so läuft es zuerst aufgeregt an der Wand des Gefäßes entlang, bis es das Weibchen mit den Antennen berührt. Das Männchen stutzt einige Sekunden, betastet mit den Fühlern nochmals den Körper des Weibchens und schnellt dann mit einem Sprung plötzlich auf dessen Rücken. Kommt das Männchen von vorn, also auf den Kopf des Weibchens zu, so berühren sich die Antennen beider Tiere einige Male kurz hintereinander, ehe das Weibchen vom Männchen umklammert wird. Die Umklammerung der Weibchen erfolgt in den meisten Fällen von rechts, wobei die drei linken Beine und das rechte Vorderbein des Männchens über dem Weibchen liegen, während die beiden rechten Hinterbeine unter dem Weibchen durchgreifen. Das Männchen hängt also seitlich am Weibchen, so saß die Körper beider Tiere in einem Winkel von fast 90° zueinander stehen und das Männchen die Unterlage höchstens mit der rechten Abdomenkante berührt. Die Antennen der Tiere stehen dabei in keiner Verbindung. Der Kopulationsapparat wird ausgestülpt und durch Drehung um etwa 90° an die weibliche Geschlechtsöffnung gebracht.

In dieser Stellung verharren die Tiere meist regungslos 30—40 min an dem gleichen Platz. Das Männchen schnellt aber während dieser Zeit in Abständen von 15—20 Sekunden erregt mit den Beinen über den Körper des Weibchens. Gegen Ende der Kopulation wird der Abstand zwischen den Schnellbewegungen immer größer. Nach Beendigung der Begattung löst sich das Männchen rasch vom Weibchen, welches sich eilig entfernt. Fast in allen Fällen putzen beide Tiere nach der Kopulation ihre Fühler, indem sie diese langsam durch die Bürsten der Vorderbeine ziehen. Nach Beendigung einer Begattung kopulierten viele Männchen mit einem zweiten Weibchen, während sämtliche Weibchen zu zwei aufeinanderfolgenden Kopulationen nicht bereit waren.

Bei einigen Weibchen konnte beobachtet werden, daß sie während der Begattung nach etwa 10 min aufgeregt die Antennen bewegen. Schließlich beginnt das Weibchen durch das Zuchtgefäß zu laufen und versucht, durch langsame Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen unter Zuhilfenahme der Hinterbeine, das Männchen von seinem Rücken abzustreifen. Das Männchen konnte aber in keinem dieser Fälle abgeworfen werden.

In vielen anderen Fällen kam es überhaupt nicht zu einer Kopulation. Traf nämlich das Männchen auf ein paarungsunwilliges Weibchen, so kam es zu einer Balgerei, aus der das Weibchen fast immer als Sieger

hervorging, da es infolge seiner körperlichen Überlegenheit die größere Kraft und Ausdauer hat.

Kämpfe zwischen gleichgeschlechtlichen Tieren konnten nicht beobachtet werden. Normalerweise hielten sich mehrere in einer Schale zusammengehaltene Männchen (das gleiche gilt für Weibchen) einzeln an verschiedenen Stellen des Zuchtgefäßes auf. Kamen zwei dieser Tiere zufällig miteinander in Berührung, so betasteten sie sich gegenseitig mit den Antennenspitzen, ehe eine der beiden Wanzen die Flucht ergriff und einen anderen Unterschlupf aufsuchte.

Es ist anzunehmen, daß die Fühler bei der Begattung, d. h. eigentlich bei der Erkennung der Geschlechter eine Rolle spielen, da das Männchen das Weibchen offensichtlich mit Hilfe der Antennen als solches erkennt, und sich häufig beide Tiere vor der Kopulation mit den Fühlern betasten.

2. Eiablage. Die Weibchen der Staubwanzen beginnen etwa 6 bis 8 Tage nach der Kopulation mit der Eiablage. Die Eier werden nie am Tage, sondern immer in den späten Abend- und Nachtstunden abgelegt. Es ist außerordentlich schwer, in der Natur die Eier von *Reduvius personatus* zu finden, da sie immer einzeln in bestimmten Zeitabständen abgelegt werden und dann an solche Stellen, die entweder zu dunkel oder zu versteckt liegen, um die Eier dort wahrzunehmen. In den Zuchtgefäßen wurden sie verstreut auf den Boden verteilt.

Mit Hilfe der nach GÖTZ (1949) abgewandelten Eiablageuhr konnten die Eiablagezeiten genau festgestellt werden.

Bei dieser Eiablage-Uhr handelt es sich um eine in 12 gleiche Sektoren eingeteilte Pappplatte, über der sich ein Gazebehälter wie ein Uhrzeiger innerhalb von 12 Std einmal dreht. Den Boden des Gazekästchens, in dem sich das Weibchen befindet, bildet ein feiner Maschendraht, durch den die abgelegten Eier auf die darunter befindliche Platte zu fallen vermögen. Der Abstand zwischen dem Drahtboden und der Pappplatte beträgt 1 cm, um das durch den Fall mögliche Davonspritzen der

Tabelle 1.

Tag					Tag				
1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.
<i>Erstes Weibchen</i>					<i>Zweites Weibchen</i>				
20 ³⁰	20 ³⁰	20 ⁴⁵	20 ⁰⁰	20 ³⁰	1 ¹⁵	21 ³⁰	21 ¹⁵	22 ⁴⁵	22 ³⁰
21 ³⁰	21 ³⁰	21 ⁰⁰	21 ⁴⁵	21 ⁴⁵	2 ³⁰	0 ¹⁵	22 ¹⁵	23 ⁰⁰	22 ⁴⁵
2 ³⁰	21 ⁴⁵	21 ³⁰	22 ⁰⁰	22 ⁰⁰	2 ⁴⁵	0 ⁴⁵	22 ³⁰	23 ¹⁵	
2 ⁴⁵	23 ³⁰	21 ⁴⁵	22 ³⁰	22 ³⁰					
	23 ⁴⁵	22 ⁰⁰							
		22 ³⁰							
		22 ⁴⁵							
					<i>Drittes Weibchen</i>				
					22 ⁴⁵	0 ³⁰	0 ³⁰	23 ⁴⁵	23 ⁰⁰
					23 ³⁰	1 ¹⁵	1 ¹⁵	0 ¹⁵	24 ⁰⁰
					1 ⁴⁵				0 ⁴⁵
					2 ¹⁵				1 ⁰⁰

Eier zu verhindern. Da bekannt ist, wann der Behälter mit dem Weibchen über der Ablagestelle sich befand, ließ sich die Legezeit nach einem halben Tag noch feststellen. Auf diese Weise war es möglich, die nächtlichen Ablagezeiten der Weibchen von *Reduvius personatus* genau zu ermitteln.

Die Eier werden immer einzeln in Abständen von mindestens $\frac{1}{4}$ Std bis zu mehreren Stunden abgelegt. Die Zeit zwischen den einzelnen Ablagen schwankt jedoch in den meisten Fällen zwischen 15 und 60 min. Hier seien nur die Ablagezeiten dreier Weibchen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen angeführt.

Tabelle 2.

Bei der Anzahl der abgelegten Eier je Weibchen muß zwischen solchen Weibchen unterschieden werden, die kopuliert haben, und solchen, die nicht begattet wurden. Letztere beginnen nämlich etwa 15—20 Tage nach der Imaginalhäutung ebenfalls mit der Eiablage.

Begattete Weibchen			Unbegattete Weibchen		
Nr.	Eizahl	Tage	Nr.	Eizahl	Tage
1	159	52	1	27	38
2	23	22	2	25	150
3	87	82	3	110	33
4	94	32	4	85	19
5	57	24	5	107	92
6	56	36	6	110	38
7	12	33	7	64	73
8	85	87	8	54	59
9	66	54	9	28	46
10	171	61	10	55	61

Die Eizahl der einzelnen Weibchen während der Dauer der Legezeit ist natürlich schwankend, sowohl bei unbegatteten als auch bei begatteten Tieren.

Aus der Tabelle ist weiterhin zu entnehmen, daß Weibchen, die kopulierten, im Durchschnitt fast die doppelte Eimenge produzieren als unbegattete Tiere. Während letztere durchschnittlich in 60,9 Tagen 66,5 Eier ablegten, produzierten die ersteren durchschnittlich in 48,3 Tagen 81,2 Eier. Das bedeutet, daß die tägliche Legeleistung der so verschiedenen Weibchen grundsätzlich anders ist.

Die Eier von *Reduvius personatus* sind normalerweise von ovaler Gestalt, deren eine Seite abgeflacht ist. Diese Seite wird von dem kreisrunden Deckel eingenommen. Einige wenige Eier hatten fast rundes, andere mehr längliches Aussehen. Die Farbe der Eier schwankt zwischen einem hellen Braungelb und einem tiefen Braun. Am häufigsten jedoch sind sie braungelb getönt. Das chitinöse Exochorion ist relativ hart. Die Oberfläche der Eier ist völlig glatt und weist einen leicht klebrigen Überzug auf. Erst bei mikroskopischer Betrachtung ist zu erkennen, daß das Exochorion eine bestimmte Struktur besitzt. Diese Oberflächenstruktur, die wegen der Konvexität des Eies unter dem Mikroskop nur schwer sichtbar ist, wird durch kleine sechseckige Felder gekennzeichnet, die der Eischale das Aussehen einer Bienenwabe verleihen. (Abb. 1.)

Die Größe der Eier von verschiedenen Weibchen kann beträchtliche Unterschiede aufweisen. Die Messungen ergaben einen Höchstwert von 2,05 mm Länge, 0,86 mm Breite und einen Mindestwert von etwa 1,29 mm Länge und 0,79 mm Breite. Messungen der Eier von verschiedenen Weibchen zeigten eine Durchschnittsgröße von 1,25 mm Länge und 0,81 mm Breite (Mittel von 200 Eiern).



Abb. 1. *Reduvius personatus*, leere Eihüllen (Vergr. etwa 30mal).

Die Größenunterschiede der Eier ein und desselben Weibchens sind gering. Die Schwankungen der Länge sind dabei größer als die der Breite.

Der durchschnittliche Durchmesser des abgesprengten Eideckels beträgt 0,44 mm. Die Eigewichte bewegen sich innerhalb einer Grenze von 0,46 und 0,55 mg. Durch eine Anzahl von Wägungen wurde ein Gewicht von 0,51 mg (Mittel von 100 Eiern) festgestellt. Während der Embryonalentwicklung findet keine merkliche Gewichts- oder -abnahme der Eier statt.

3. Entwicklung. Eingehend wurde die Dauer der Embryonalzeit und deren Abhängigkeit von der Temperatur und Feuchtigkeit untersucht. Über die Entwicklungszeit der Eier von *Reduvius personatus* liegen von MADEL (1951) schon einige Angaben vor. Im Rahmen

vorliegender Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Embryonalentwicklung nicht so sehr von der Feuchtigkeit als vielmehr von der Temperatur abhängig ist. Bei einer Temperatur von durchschnittlich 25,5° C betrug die Entwicklungszeit der Eier 17—22 Tage, die Masse der Tiere schlüpfte nach 19 Tagen. Die Entwicklung dauerte bei Temperaturen zwischen 26 und 32° C nur 11—18 Tage. Bei einer Temperatur von 8° C konnten sich die Eier nicht mehr entwickeln. Die angegebenen Entwicklungszeiten gelten für eine normale, zwischen 60 und 70 % schwankende Luftfeuchtigkeit. Bei niederen und höheren Feuchtigkeiten waren keine merklichen Unterschiede in bezug auf die Entwicklungsdauer festzustellen.

Eine Erklärung für die Unempfindlichkeit der Eier gegenüber den verschiedenen Feuchtigkeiten ist wohl in der festen chitinierten Eischale gegeben, die dem Embryo einen sehr guten Schutz gegenüber der Umwelt bietet.

Die Eier der unbegatteten Weibchen kamen in keinem Fall zur Entwicklung. Ein Teil schrumpfte sofort nach der Eiablage, während eine ganze Anzahl erst nach Tagen und sogar nach Wochen austrocknen begann. Sehr viele dieser Eier hatten eine dunklere Farbe und dunkelten während der Austrocknung noch erheblich nach, so daß sie fast schwarz aussahen.

Die Entwicklung des Embryos und dessen Organe wurde lediglich durch die kaum durchsichtige Eischale beobachtet. Nur das Sichtbarwerden der Augen, die als deutlich rote Punkte zu erkennen sind, ist nach 6—8 Tagen festzustellen. Im Verlauf weiterer Tage wandern die Augenpunkte von dem einen Ende des Eies zur Seite des Deckels hin, wo sie unterhalb desselben ihre endgültige Embryonallage erreichen. Zur gleichen Zeit sind bei sehr hellen Eiern der Rüssel und die Beinpaare auf der Ventralseite des Embryos zu erkennen. Bei allen Eiern aber ist in den letzten Tagen vor dem Schlüpfen der relativ große Eischalensprenger zu sehen, der sich dunkel von dem hellen Untergrund des Embryos abhebt und wegen seiner stärkeren Chitinisierung auch durch dunklere Eischalen zu erkennen ist.

Erstmalig wurde dieser Eizahn bei *Reduvius personatus* von KLEIN-KRAUTHEIM (1932) an einer abgestreiften Embryonalhaut beobachtet. Am schlüpfreifen Embryo konnte ich feststellen, daß es sich dabei um einen frontalen Eisprenger handelt, der etwa in der Höhe der Augen beginnt und sich in der Mitte des Kopfes zur Occipitalregion hinzieht. Die durchschnittliche Länge und Breite des Eischalensprengers beträgt 0,37 bzw. 0,27 mm. Zwei in der Medianlinie des Kopfes zusammenstoßende Chitinleisten geben dem Eizahn ankerförmiges Aussehen, wobei die beiden Ankerarme aus je 9—10 Zähnen in der Breite und 2—10 Zähnen in der Höhe bestehen. Der Ankerschaft wird in seinem oberen Teil aus den beiden glatten Chitinleisten gebildet. (Abb. 2.)

4. Der Schlüpfvorgang. Das Schlüpfen der kleinen Staubwanzenlarven erfolgte meist nachts und nur in einigen wenigen Fällen konnte der Schlüpfvorgang am Tage beobachtet werden.

Schon einen Tag vor dem Ausschlüpfen ist durch die Eischale zu erkennen, daß der Embryo in mehr oder minder großen Abständen (1—5 Std) mit dem Kopf Bewegungen ausführt. Diese Bewegungen sind durch die deutliche Sichtbarkeit der Augen und des Eischalensprengers gut zu verfolgen. Der Embryo dreht seinen Kopf zuerst langsam nach rechts und links und bewegt ihn dann nach oben und unten. Einige Male wiederholt sich dieser Vorgang, wobei die Zähnnchen des Eisprengers wahrscheinlich die Verfaltung des Deckels mit der Eischale zu lockern beginnen. Das Absprengen des Eideckels, das in der Hauptsache durch die Schwellung des gesamten Embryonalkörpers

bedingt ist, wird hier durch das vorhergehende Bewegen des Eischalensprengers unterstützt.

Der Deckel wird plötzlich abgesprengt, wobei er in vielen Fällen noch durch eine schwache Verbindung an der Eischale verbleiben kann. Ist der Deckel abgelöst, so schiebt sich zuerst der Kopf mit den Augen und dem bis dahin noch unversehrten Eizahn hervor. Langsam rückt dann der ganze Embryonalkörper bis auf das Ende des Abdomens und

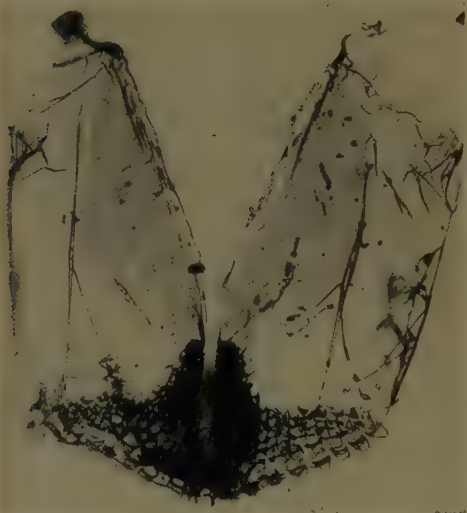


Abb. 2. *Reduvius personatus*, Eischalensprenger mit noch anhaftender Embryonalhaut. (Vergr. etwa 155mal.)

der Beinenden nach, welche letztere vorerst noch in der Schale verbleiben. Der Embryo führt nun rhythmische Pumpbewegungen aus, wobei Blasen in seinem Darm aufsteigen. Nach einigen Stunden platzt dann die Embryonalhaut, und zwar in der Mediane des Eischalensprengers, so daß dieser in seinem oberen Teil gespalten wird. Nun folgt das Abstreifen der mit dem Eisprenger verbundenen Embryonalhülle. Als erstes kommt der Kopf der kleinen Wanze aus der Hülle zum Vorschein und auch der Rüssel wird durch angestregtes Hin- und Herbewegen befreit. Mittler-

weile führen die Beine ebenfalls Bewegungen aus und gleiten langsam aus der Exuvie, wobei ihre Femoren so gegen die Tibien abgewinkelt werden, daß dadurch die Embryonalhaut eine sechseckige Öffnung bekommt. In dieser Phase des Schlüpfvorganges hält sich der Embryo gewissermaßen selbst das Säckchen auf, aus dem er nun nach und nach seine übrigen Glieder vollständig herauszieht. Die beiden Vorderbeine verlassen als erste die Hülle, während die beiden Hinterbeine gleichzeitig mit den Antennen befreit werden. Als letztes wird die Abdomenspitze aus der Exuvie gezogen, wobei das Tier mit zwei bis drei schnellen Schritten die Eischale mit der Embryonalhülle und dem Eischalensprenger zurückläßt.

Die Gesamtdauer des Schlüpfvorganges beträgt 10—12 min.

5. Die postembryonale Entwicklung. *Reduvius personatus* bringt in einem Jahr nur eine einzige Generation hervor. Im Laufe seiner Embryonalentwicklung macht er neben der Embryonalhäutung noch fünf

weitere Häutungen durch. Die Häutungszahl bleibt bei den verschiedensten Nahrungs- und Umweltbedingungen immer konstant.

Durch niedrigere Temperaturen wird das Leben der Staubwanzen zwar verlängert, die Entwicklung kann durch Wärme aber nicht merklich beschleunigt werden. Es konnten in der Zucht trotz reichlicher Nahrung und Temperaturen von 27—32° C keine zwei Generationen im Jahr gezüchtet werden. Die Entwicklungsspanne wurde bei diesen Temperaturen nur etwa um 1—2 Monate verkürzt. Bei Kaltstellen der Tiere zeigte sich eine um 3—4 Monate verlängerte Entwicklungsdauer.

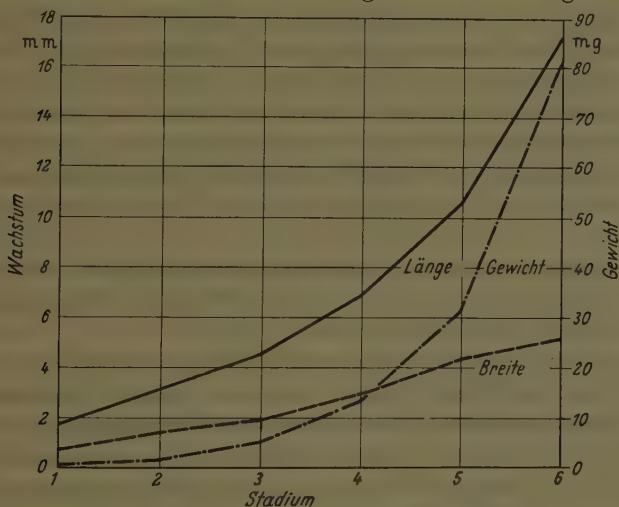


Abb. 3. *Reduvius personatus*, vergleichende Kurven von Längen-, Breiten- und Gewichtszunahme der verschiedenen Larvenstadien.

Für die genaue Bestimmung der einzelnen Stadien der Staubwanze sind die Körpermaße nicht allein ausschlaggebend, da ein gut genährtes Tier in seiner Größe schon einem frisch gehäuteten des nächstfolgenden Stadiums gleichen kann. Die Größenverhältnisse lassen also nur eine ungefähre Einstufung in die Entwicklungsreihe zu.

Nach jeder Häutung durchgeführte Messungen und Wägungen der verschiedenen Stadien führten zu dem Ergebnis, daß das Wachstum während der drei ersten Häutungen sanft ansteigt, um dann bei den folgenden rapid zuzunehmen. (Abb. 3.)

Wie bei den übrigen heterometabolen Insekten gleichen auch die Larven der Staubwanze gestaltlich schon in etwa den Imagines. Ein typischer Unterschied besteht in der Färbung, der Beflügelung, der Größe der Augen, der Ausbildung der Ocellen, der Anzahl der Tarsen und dem Vorhandensein von Putzvorrichtungen. Sämtliche Larvenstadien sind ungeflügelt, weisen aber zum Teil schon die Flügelanlagen

auf. Im Gegensatz zu den schwarz gefärbten Imagines zeigen alle Jugendstadien eine helle Farbe, die mit aufsteigender Entwicklungsreihe an Pigment gewinnt. Bei den Eilarven setzen sich die Augen aus wenigen Ommatidien zusammen, während deren Zahl im Laufe der Entwicklung zunimmt, so daß die Imagines die relativ größten Augen besitzen. Ebenso sind die erwachsenen Tiere durch je zwei Ocellen ausgezeichnet, die bei dem letzten Larvenstadium in der Anlage schon vorhanden sind. Alle Jugendstadien der Staubwanze besitzen nur zwei Tarsalglieder, die bei den adulten Tieren immer in Dreizahl vorhanden sind. Die nur bei den Imagines anzutreffenden Putzbürsten sind bei dem letzten Larvenstadium schon als Verdickungen an den Tibienspitzen vorgebildet. Ein weiterer Unterschied zwischen dem larvalen und adulten *Reduvius* kann in der Beweglichkeit und Reaktionsfähigkeit desselben gesehen werden. Im Gegensatz zu einem ausgewachsenen Tier ist eine Larve weniger flink und beweglich. Sie führt langsamere Bewegungen aus als die erwachsenen Wanzen, was besonders bei der Laufbewegung zum Ausdruck kommt.

Die augenscheinlichsten Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Stadien der Staubwanzen sind in der Ausbildung der Flügelanlagen und der Entwicklung des Thorax gegeben.

Die frisch aus dem Ei geschlüpfte Larve von *Reduvius personatus* hat die Embryonalhaut bereits beim Verlassen der Eihülle abgestreift. Das kleine Tier sieht nach der Häutung glashell aus und dunkelt nicht wesentlich nach. Nach der ersten Fütterung mit einer Bettwanzenlarve schwillt das Abdomen gewaltig an und nimmt gleichzeitig eine dunkelrote bis braune Farbe an, die auf den mit Nahrung gefüllten Darm zurückzuführen ist. Die Segmentierung der jungen Larven ist nur schwach zu erkennen, der Kopf ist relativ groß und wirkt sehr gedrungen. Die Antennen sind bereits viergliedrig wie bei den erwachsenen Tieren. Die erst zweigliedrigen Tarsen sind mit Klauen versehen, während die Imagines immer drei Tarsalglieder aufweisen. Der Prothorax ist relativ normal ausgebildet, Meso- und Metathorax dagegen nur schwach angedeutet, Flügelanlagen sind noch keine vorhanden.

Die Länge der Larve beträgt 1,17 mm und die Breite 0,75 mm (es wurde die breiteste Stelle des Abdomens gemessen). Das Durchschnittsgewicht der Eilarven beträgt 0,40 mg. Dieser Wert besagt, daß das Gewicht der Eilarve $\frac{4}{5}$ des gesamten Eigewichtes ausmacht. Die Zahlenangaben sind das Mittel aus je 30 Messungen und Wägungen.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen anderer Autoren konnte ich feststellen, daß die jungen Larven schon am ersten Tage auf Beutefang gehen. Sie nehmen kleinere Bettwanzenlarven an, ebenfalls gebotene Fettsubstanzen werden aber nicht beachtet.

Die Entwicklungsdauer des ersten Larvenstadiums beträgt 10—35 Tage, wobei sich eine mittlere Entwicklungszeit von 22,7 Tagen ergibt (Mittel von 100 Tieren).

Das *zweite Larvenstadium* ist durch eine deutliche Segmentierung ausgezeichnet. Die Flügelanlagen sind als kleine Hautduplikaturen zu erkennen. Die Länge beträgt 3,14 mm, die Breite 1,41 mm und das Gewicht 1,62 mg im Durchschnitt. Die Entwicklungsdauer ist mit 12—15 Tagen anzugeben, das Mittel ist 19,7 Tage.

Beim *dritten Larvenstadium* hat die kleine Wanze eine Länge von 4,59 mm und eine Breite von 1,99 mm erreicht, das Gewicht beträgt 5,05 mg im Durchschnitt. Für die Lebensdauer des dritten Stadiums sind 10—19 Tage anzugeben, wobei das Mittel 17 Tage beträgt (Mittel von 100 Tieren).

Beim *vierten Larvenstadium* ergaben je 30 Messungen eine mittlere Länge von 6,85 mm und eine mittlere Breite von 2,49 mm. Das Durchschnittsgewicht beträgt 13,63 mg. Die durchschnittliche Lebensdauer dieses Stadiums ist 32,5 Tage (Mittel von 100 Tieren).

Das *fünfte Larvenstadium* ist besonders durch die großen Flügelscheiden ausgezeichnet. (Abb. 4.)

Am Kopf der Larve lassen sich die als kleine Verdickungen vorgebildeten Ocellen des Imaginalstadiums schon wahrnehmen. Die Cuticula dieser Larven ist sehr fest und zeigt eine stärkere Pigmentierung als die der Larven der vorhergehenden Stadien. Die Farbe schwankt zwischen einem hellen Braun und einem Graubraun. Das Gewicht der Tiere beträgt 41,1 mg, die Länge 10,58 mm und die Breite 4,32 mm (Mittel aus je 30 Wägungen und Messungen).

Die Lebensdauer dieses Larvenstadiums erstreckt sich über eine Spanne von 4—8 Monaten, deren Mittel (100 Tiere) 169,9 Tage beträgt.

Normalerweise überwintern die Larven der Staubwanzen des fünften Stadiums. In meiner Zucht war das, unter den der natürlichen Lebensweise nach Möglichkeit angepaßten Bedingungen, immer der Fall. Im Winter oder im Frühjahr kann man unter Umständen auch eine Larve des vorhergehenden Stadiums antreffen. Es handelt sich hier aber meiner Meinung nach um solche Tiere, deren Entwicklungszeit durch ungenügende Nahrung verlängert wurde. Während die normalen Winterstadien die Imaginalhäutung ungefähr Ende März durchmachen, geschieht es bei diesen Ausnahmen etwa im August. Die Tiere haben vermutlich eine verkürzte Imaginalperiode. Bei den Tieren aus meiner Zucht konnte das jedenfalls beobachtet werden.

Mit der *Imaginalhäutung* erreicht *Reduvius personatus* seine endgültige Gestalt. Der Prothorax mit dem Halsschild ist nun bedeutend kleiner als der Mesothorax. Der stark reduzierte Metathorax tritt nicht

in Erscheinung, da er vom Mesoscutellum vollständig überdeckt wird. Bei der stattfindenden Häutung gelangen die seither zusammengelegten Flügel zur vollen Entfaltung, die Ocellen treten als leuchtend rote Punkte auf der Stirn in der Mitte hinter den Augen hervor, die Komplexaugen haben sich merklich vergrößert und bilden einen Hauptanteil des Kopfes.

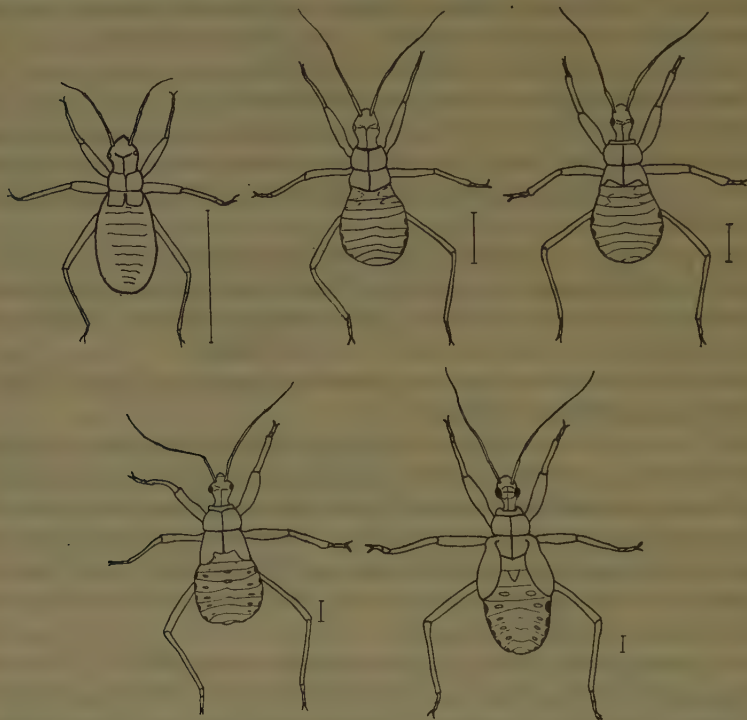


Abb. 4. *Reduvius personatus*, 1.—5. Larvenstadium, in annähernd gleicher Größe gezeichnet, um die Proportionsveränderungen erkennbar zu machen. Maßstab immer 1 mm.

Das cuticulare Haarkleid der Larve ist zum Teil durch eine verhältnismäßig starke, echte Behaarung ersetzt.

An den beiden Vorderbeinpaaren haben sich die Putzbürsten gebildet, während die Zahl der Tarsen sich auf drei erhöht hat. Die Farbe der Imagines ist rein schwarz, nur wenige Ausnahmen weisen eine mehr dunkelbraune Farbe auf.

Bei der Häutung sind alle Tiere vollkommen weiß, das Ausfärben der Imagines dauert 1—1½ Tage. Das rote Ocellenpigment geht im Laufe der Imaginalzeit in eine dunkelbraune bis schwarze Farbe über. Während dieser Zeit nehmen die Wanzen keine Nahrung zu sich.

Mit der Imaginalhäutung werden die Tiere geschlechtsreif. Die äußeren Merkmale zwischen Männchen und Weibchen kommen einmal

in der verschiedenen Größe und zum anderen in der Flügelbildung zum Ausdruck. Das Weibchen ist immer länger und breiter als das Männchen. Die Flügel des Weibchens lassen einen Teil des Abdomens unbedeckt, während die Flügel das Abdomen des Männchens meist einige Millimeter überragen. Den größten, nicht gleich abzuschätzenden Unterschied zwischen beiden Geschlechtern bildet das Gewicht. Das Weibchen ist immer schwerer als das Männchen, es kann unter Umständen doppelt so schwer sein als dieses.

Das Mittel aus je 30 Messungen und Wägungen veranschaulicht Abb. 5; die auf die Abbildung folgende Tabelle gibt einige ausgewählte Daten.

Die postembryonale Entwicklung von *Reduvius personatus* beginnt mit dem Ausschlüpfen der kleinen Wanzen im Frühjahr und Sommer. Die Tiere machen bis zum Herbst vier Häutungen durch. Als Larven des fünften Stadiums überdauern die Staubwanzen den Winter, um dann im darauffolgenden Frühjahr die Imaginalhäutung durchzumachen. Mit der

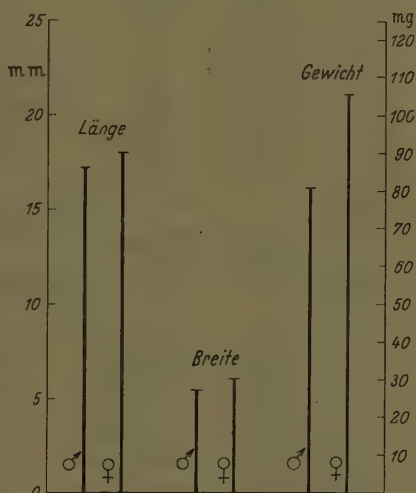


Abb. 5. *Reduvius personatus*, Größen- und Gewichtsunterschiede zwischen männlichen und weiblichen Imagines.

Tabelle 3.

Männchen			Weibchen		
Länge mm	Breite mm	Gewicht mg	Länge mm	Breite mm	Gewicht mg
16,0	4,5	69,5	18,5	6,3	112,5
16,5	5,1	88,2	20,0	6,5	113,1
17,0	5,0	84,2	18,0	6,2	115,9
16,8	5,0	76,1	18,2	6,0	114,4
17,0	5,0	82,2	17,8	5,7	107,2
16,5	4,8	69,6	18,6	5,8	122,8
17,0	5,5	78,9	17,5	6,2	116,0
16,5	5,9	93,2	19,0	6,5	115,3
17,0	4,9	91,4	18,6	5,9	116,1
17,3	5,2	59,9	19,9	6,3	109,2
<i>Maximalwert</i>					
19,0	5,9	93,2	20,2	6,5	130,2
<i>Minimalwert</i>					
16,0	4,3	59,5	17,5	5,5	84,7
<i>Durchschnittswert von 30 Messungen</i>					
17,1	5,1	81,4	18,0	6,1	106,4

Tabelle 4. *Ausgewählte Daten der*

Nr.	Eiablage	Männchen				
		1.	2.	3.	4.	5.
		Häutung				
1	4. 7. 52	21. 7.	15. 8.	7. 9.	25. 9.	23. 10.
2	6. 7. 52	23. 7.	12. 8.	8. 9.	20. 9.	22. 10.
3	6. 7. 52	24. 7.	12. 8.	7. 9.	20. 9.	22. 10.
4	10. 7. 52	31. 7.	5. 9.	18. 9.	12. 10.	19. 11.
5	11. 7. 52	1. 8.	19. 8.	13. 9.	30. 9.	29. 10.
6	13. 7. 52	4. 8.	19. 8.	20. 9.	11. 10.	19. 11.
7	23. 7. 52	13. 8.	10. 9.	19. 9.	4. 10.	27. 10.
8	23. 7. 52	13. 8.	7. 9.	19. 9.	3. 10.	23. 10.
9	25. 7. 52	15. 8.	8. 9.	18. 9.	3. 10.	27. 10.
10	4. 8. 52	23. 8.	16. 9.	26. 9.	22. 10.	25. 11.

Nr.	Imaginal und 6. Häutung	Tod	Ei-Entwick- lung Tage	Post- embryonale Entwicklung Tage	Imaginal- leben Tage	Lebens- dauer Tage
1	26. 5. 53	3. 7. 53	17	309	38	347
2	23. 7. 53	13. 10. 53	17	365	82	447
3	7. 5. 53	14. 9. 53	18	287	105	392
4	26. 5. 53	3. 7. 53	21	299	38	337
5	21. 6. 53	17. 10. 53	21	293	118	411
6	5. 6. 53	21. 8. 53	22	305	77	382
7	25. 7. 53	23. 9. 53	21	346	60	406
8	28. 5. 53	29. 7. 53	21	291	62	353
9	20. 5. 53	17. 9. 53	21	278	120	398
10	26. 7. 53	17. 10. 53	19	337	83	420

Extrem- und Durchschnittswerte von 100 Tieren (in Tagen).

	Maximum	Minimum	Durchschnitt
Ei-Entwicklung	25	14	19
Postembryonale Entwicklung . . .	498	205	254
Imaginalzeit	118	38	78
Lebensdauer	513	307	332

Imaginalhäutung werden die Tiere geschlechtsreif, und die Weibchen beginnen bald darauf mit der Eiablage. Da die Entwicklungszeit der Eier und der ersten Larvenstadien relativ kurz ist, findet man im Sommer und Herbst neben den erwachsenen Tieren auch die Jugendstadien.

Das Imaginalleben der Staubwanzen erstreckt sich über die Sommer- und Herbstmonate. Dabei ist kein Unterschied der Lebensdauer der Männchen und Weibchen zu beobachten. Fast während ihrer ganzen Imaginalzeit legen die Weibchen Eier.

Einige Zeit vor dem natürlichen Tod machen sich bei den Tieren verschiedene Alterserscheinungen bemerkbar. Die vorher äußerst flinken Wanzen bewegen sich nun merklich langsamer und unsicherer. Bei

Entwicklungszeit und Lebensdauer.

Nr.	Eiablage	Weibchen				
		1.	2.	3.	4.	5.
		Häutung				
1	7. 7. 52	24. 7.	12. 8.	15. 9.	25. 9.	19. 10.
2	18. 7. 52	9. 8.	4. 9.	17. 9.	3. 10.	23. 10.
3	18. 7. 52	8. 8.	2. 9.	20. 9.	8. 10.	11. 11.
4	19. 7. 52	9. 8.	28. 8.	15. 9.	27. 9.	21. 10.
5	27. 7. 52	11. 8.	4. 9.	18. 9.	5. 10.	3. 11.
6	31. 7. 52	19. 8.	14. 9.	24. 9.	5. 10.	25. 10.
7	1. 8. 52	20. 8.	17. 9.	5. 10.	22. 10.	29. 11.
8	8. 8. 52	1. 9.	14. 9.	26. 9.	19. 10.	26. 11.
9	12. 8. 52	10. 9.	18. 9.	27. 9.	6. 10.	26. 11.
10	21. 8. 52	18. 9.	28. 9.	21. 10.	25. 11.	11. 1. 53

Nr.	Imaginal- und 6. Häutung	Tod	Ei-Entwick- lung Tage	Post- embryonale Entwicklung Tage	Imaginal- leben Tage	Lebens- dauer Tage
1	26. 4. 53	29. 7. 53	17	276	94	370
2	13. 6. 53	14. 9. 53	22	282	93	375
3	15. 6. 53	17. 9. 53	21	321	94	415
4	22. 4. 53	5. 10. 53	21	266	166	432
5	1. 7. 53	5. 11. 53	22	323	127	450
6	21. 6. 53	13. 9. 53	19	306	84	390
7	28. 6. 53	15. 10. 53	19	312	109	421
8	8. 6. 53	22. 8. 53	24	257	75	332
9	15. 6. 53	1. 10. 53	24	282	108	390
10	17. 7. 53	5. 11. 53	29	301	111	412

Extrem- und Durchschnittswerte von 100 Tieren (in Tagen).

	Maximum	Minimum	Durchschnitt
Ei-Entwicklung	29	13	19
Postembryonale Entwicklung . .	510	261	267
Imaginalzeit	166	75	106
Lebensdauer	537	360	373

vielen dieser Tiere sind die Beine fast völlig steif, so daß sie sich nur noch mit Mühe fortbewegen können.

Die Entwicklungszeit von *Reduvius personatus* ist in einem gewissen Maße von äußeren Verhältnissen beeinflussbar. So können ungünstige Bedingungen die Häutungen um Wochen und sogar um Monate verzögern. Daraus ergibt sich, daß die Entwicklungsdauer direkt vom Zeitpunkt des Schlüpfens der jungen Tiere abhängt. Außerdem machen sich auch individuelle Unterschiede bei der Entwicklung der Tiere bemerkbar.

Die obenstehenden Tabellen sollen das Bild ergänzen.

6. Häutungsvorgang. Die Häutung von *Reduvius personatus* spielt sich fast immer in den Nachtstunden ab. Bei den Tieren aus meiner

Zucht konnte der Vorgang nur in sehr wenigen Fällen am Tage beobachtet werden.

Schon etliche Tage vor der Häutung zeigen die Larven ein verändertes Verhalten. Sie sind ausgesprochen träge und ergreifen oft nicht einmal die Flucht, wenn sie an irgendeiner Stelle des Körpers berührt werden, während normale Tiere bei der geringsten Berührung durch aufgeregtes Hin- und Herrennen versuchen, aus dem Zuchtgefäß zu gelangen. Etwa 2—3 Tage vor der Häutung wird keine Nahrung mehr aufgenommen. Die einzige zu beobachtende Reaktion während dieser Zeit ist das Streben ins Dunkle, wenn die eine Hälfte der Zuchtschale mit schwarzem Papier beschattet wird.

Der Häutungsvorgang beginnt mit dem Aufplatzen der alten Chitinhaut über Kopf und Thorax. Der entstandene Spalt erweitert sich unter einer schwachen Auf- und Abbewegung des ganzen Körpers, wobei zuerst die Augen und ein Teil des Kopfes zum Vorschein kommen. Allmählich schiebt sich der Cephalothorax aus der Hülle und die Mittelbeine werden dabei als erste der Gliedmassen frei. Nun stemmen sich die Mittelbeine ventral gegen die alte Haut, so daß sie das Herausziehen der Vorderbeine erleichtern. Zur gleichen Zeit mit den Vorderbeinen treten die Antennen und der Rüssel zum Teil hervor.

Während die Fühler sich nun ganz befreien, werden auch die Hinterbeine aus der Exuvie gezogen. Nach dem völligen Ausschlüpfen des Abdomens aus der alten Haut ist die Larve nur noch durch eine feine Verbindung ventral vom Rüssel zur Exuvie mit dieser verbunden. Nach etwa 2—3 min reißt auch diese letzte Verknüpfung, und das Tier läßt die abgestreifte Haut einfach hinter sich zurück, ohne sich nochmals um sie zu kümmern. Nach vollzogener Häutung beginnt die Larve im Staub zu scharren, um sich zu maskieren.

Die Häutungsdauer beträgt insgesamt eine $\frac{1}{2}$ —1 Std. Die Haut bleibt bis auf den Häutungsriß völlig unversehrt zurück.

Frisch gehäutete Tiere zeigen eine weiße bis gelblichweiße Farbe. Bei den einzelnen Stadien nimmt das Verhärten und Ausfärben der neuen Haut verschiedene Zeiten in Anspruch. Die jüngsten Larven brauchen dazu 3—4 Std, während die Imagines 1—1 $\frac{1}{2}$ Tage dazu benötigen.

Das Absterben bei dem Häutungsvorgang oder ein unvollständiges Häuten ist bei den Staubwanzen relativ selten. Nur bei wenigen Tieren konnte beobachtet werden, daß Glieder in der alten Hülle steckenblieben und erst einige Tage später mit dieser abfielen. Ebenso wurden in einigen Fällen die Flügel der Imagines bei der Häutung nicht entfaltet.

Während der Häutung verlorene Klauen, Tarsen oder gar ganze Beine konnten in keinem Fall im Verlauf der weiteren Larvenentwicklung regeneriert werden.

IV. Maskierung und Putzen.

1. Maskierung der Larven. Über die Maskierung der Larven von *Reduvius personatus* findet man bei älteren Autoren die Ansicht vertreten, daß die Tiere sich nicht aktiv mit einer Staub- oder Sandkruste bedecken. Die Maskierung soll vielmehr eine zufällige sein, bedingt durch die staubigen Orte, an denen sich die Larven gewöhnlich aufhalten. Diese Meinung vertreten sowohl JEFFREY (1909) als auch FABRE (1936), der sagt: „Le Réduve ne s'habille pas, il se salit“. Dagegen sind WEBER (1930) und MADEL (1951) der Ansicht, daß eine aktive Maskierung stattfindet und MADEL (1951) schreibt, daß sich die Larven nach jeder Häutung wieder maskieren; dabei werden Staubteilchen von kleinen spitzen Härchen, die den ganzen Körper bedecken, festgehalten. (Abb. 6.)

Bei den Tieren aus meiner Zucht war in allen Fällen nach jede Häutung eine aktive Maskierung zu beobachten. Selbst die eben aus dem Ei geschlüpfte Larve beginnt sofort mit den Beinen auf der Unterlage zu scharren. Sind nun feine Staubteilchen in der Zuchtschale vorhanden, so sieht das winzige Tier nach kurzer Zeit wie ein wandelndes Schmutzklümpchen aus. Werden dagegen keine Staubpartikelchen in die Schale gebracht, dann versucht die Larve mit um so heftigeren Beinbewegungen kleinste Fädchen von dem unterliegenden Filtrierpapier loszukratzen, die dann kreuz und quer wie dünne Härchen auf dem Körper des Tieres liegen.

Die Häutung und somit auch das Maskieren der Larven geschieht meist nachts. Aus diesem Grunde wurden einmal maskierte Tiere in völlig schmutz- und staubfreie Zuchtbehälter gebracht, um den nach der Häutung stattfindenden Maskierungsvorgang zu verhindern. Am folgenden Tage wurde den Larven feiner Staub geboten, mit dem sich die meisten Versuchstiere auch sofort maskierten. Und zwar läßt sich immer wieder beobachten, daß die Larven sogleich stutzen, wenn sie mit den Tarsen die Staubpartikelchen berühren. Nach kurzem Zögern beginnt dann das Tier seine Beine zu bewegen. Das Maskieren erfolgt mit



Abb. 6. *Reduvius personatus*, maskierte Larve (Vergr. etwa 3mal).

den beiden Hinterbeinen, selten wird auch noch das mittlere Beinpaar benutzt. Die beiden Hinterbeine betätigen sich immer abwechselnd hintereinander, wobei sie weit aus der Hüfte schwingen und vollkommen ausgestreckt werden. Beim Anziehen des Beines werden die Tibia gegen den Femur, und die Tarsen so gegen die Tibia abgewinkelt, daß dabei die umliegenden Staubteilchen näher an den Körper des Tieres gebracht werden. Erst nachdem die Larve gleichsam einen kleinen Schmutzwall um sich angehäuft hat, beginnt sie mit den Tarsen die einzelnen Teilchen auf ihren Körper zu werfen. Da die Schmutzbeförderung vom Boden auf das Tier nur von den Tarsen und Klauen bewerkstelligt wird, ist das Maskieren der älteren Larven ein relativ lang anhaltender Vorgang, der sich über Stunden ausdehnen kann. Dabei werden die Beine in einer Minute 95—120mal vom Körper bewegt und wieder angezogen, wobei immer ein Bein mehrere Minuten hintereinander tätig ist. Das scharrende Bein wird zwischendurch am davorliegenden Mittelbein geputzt, indem die Tarsen beider Beine aneinandergerieben werden. Eine größere Larve, die zu ihrer Maskierung Stunden braucht, setzt in größeren Abständen mit der Bewegung aus, offensichtlich, um sich vorübergehend auszuruhen.

Bei der Maskierung werden die Schmutzpartikelchen von kleinen, an ihrer Spitze etwas gebogenen Härchen festgehalten oder zum Teil aufgespießt. Es handelt sich dabei nicht um echte Haare, sondern um Cuticularbildungen. Diese, bei den größeren Larven makroskopisch als winzige schwarze Pünktchen zu erkennenden unechten Haare, bedecken außer den Antennen den ganzen Körper und sämtliche Beine der Tiere.

In biologischer Hinsicht kann die Maskierung der Larven von *Reduvius personatus* wohl als Schutzmaßnahme gedeutet werden. Vollkommen maskierte Tiere nämlich heben sich von einer Staub- oder Sandschicht fast nicht ab. Bewegen sich die Larven von der Stelle, so gleichen sie eher einem in Bewegung befindlichen Schmutzhäufchen als einem Insekt. Der Einwand, daß die Larven sich im Experiment ebenso mit grellfarbigem Staub bedecken, fällt hier wohl nicht so sehr ins Gewicht, da sie in ihrer natürlichen Umwelt solchen bunten Staub nicht vorfinden. Diese Tatsache ist meiner Meinung nach viel mehr von physiologischer Bedeutung insofern, als sie Rückschlüsse auf das Fehlen eines Farbensinnes erlaubt. Die Deutung der Maskierung als eine Schutzmaßnahme kann mit der Trägheit der Larven im Gegensatz zu der bedeutend größeren Beweglichkeit der Imagines erklärt werden. Erstere können sich auf Grund der Maskierung vor etwa verfolgenden Feinden besser verbergen und vermutlich auch besser entkommen.

2. Putzvorrichtungen und Putzhandlungen. Wie die meisten Wanzen so führt auch *Reduvius personatus* Putzbewegungen aus. Besonders interessant ist es hier aber, daß dies nur für die Imagines gilt. Sämtliche

Larvenstadien zeigen nämlich ein gegensätzliches Verhalten, indem sie sich mit Staub- und Schmutzteilen maskieren. Lediglich während des Maskierungsvorganges reibt die Larve in bestimmten Abständen die Tarsen des Hinterbeines an denen des Mittelbeines, um den schon völlig mit Staub verklebten Tarsen ein weiteres Heranscharren von kleinen Schmutzteilen zu ermöglichen. Im Gegensatz zu den adulten Tieren besitzen die Larven keine besonderen Putzvorrichtungen. Bei den Imagines finden sie sich in Form von Bürsten an den Vorder- und Mittelbeinen. Diese Bürsten liegen distal an der



Abb. 7.

Abb. 7. *Reduvius personatus*, rechte Beine einer Imago von ventral.



Abb. 8a u. b.

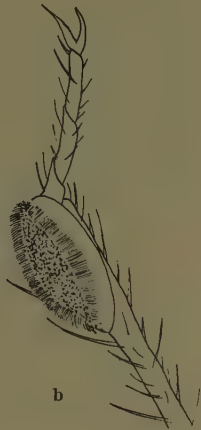


Abb. 8a u. b. a *Reduvius personatus*, Putzbürste des rechten Vorderbeines von oben.
b *Reduvius personatus*, Putzbürste des rechten Vorderbeines von unten.

Innenseite der Tibien. An den Vorderbeinen sind sie merklich größer als an den Mittelbeinen, sonst aber vollkommen gleichgestaltet. (Abb. 7.)

Das Aussehen einer solchen Bürste — betrachtet man das Bein von der Seite, so daß die Tibienspitze darüber liegt — kann mit demjenigen einer mit Drahtstiften besetzten Haarbürste verglichen werden. Sieht man aber auf die Haarfläche der Bürste, so erkennt man deutlich einen elastischen, mit vielen feinen Härchen besetzten Wulst. Dieser bildet einen ovalen Hohlraum, vergleichbar einer Schiene, deren innere Auskleidung ebenfalls unzählige Haare aufweist. (Abb. 8a und 8b.)

Zur Reinigung der Antennen werden die Vorderbeine erhoben und deren Tibien so an den Basalteil eines Fühlers angesetzt, daß die beiden Bürsten genau aufeinander treffen. Die Antenne wird nun langsam von oben nach unten durch die auf diese Weise entstandene Haarrinne gezogen. Jeder der beiden Fühler wird so einige Male hintereinander durch

die Putzrinne geführt, während zwischendurch immer wieder beide Schienen aneinandergerieben werden. Bei der weiteren Putzhandlung reiben sich die Mittelbeine an den Vorderbeinen und die Hinterbeine an den Mittelbeinen, wobei entweder das Mittelbein das Hinterbein übergreift oder umgekehrt. Durch dieses Übergreifen gelangt nämlich die Tibia des Hinterbeines bequem in die Putzschiene des Mittelbeines.

Der Rüssel gleitet bei der Reinigung durch die Bürste eines Mittelbeines, und zwar zieht das Vorderbein der gleichen Seite das Mittelbein zum Kopf heran, indem es letzteres übergreift.

Bei allen diesen Putzhandlungen nehmen die Tiere eine merkwürdige Haltung ein. So berührt ein bei der Reinigung der Antennen befindliches Tier nur mit den Tarsen der Mittel- und Hinterbeine sowie mit der Abdomenspitze die Unterlage. Es hat fast den Anschein, als ob die Wanze bei dieser Handlung hochaufgerichtet auf dem Abdomen säße. Beim Putzen der hinteren Beine werden diejenigen der Gegenseite ziemlich weit vom Körper abgespreizt. Dadurch wird eine Schräglage des ganzen Körpers und damit ein leichteres Aneinanderreiben der sich putzenden Beine ermöglicht.

D. Versuche zur Sinnesphysiologie.

I. Lichtsinn.

Im Leben der Staubwanzen spielen die Augen eine außerordentlich wichtige Rolle. Die räuberische Lebensweise von *Reduvius personatus* setzt einen ausgeprägten Gesichtssinn voraus. Der Beutefang und damit die Ernährung und Entwicklung des Tieres ist von den Augen abhängig. Möglicherweise stehen die Antennen in bestimmter Korrelation zu den Augen, indem sie als Organe eines Ferntastsinnes angesprochen werden können. Die bei dem geringsten Luftzug in Bewegung kommenden Fühler der Tiere können ein sich näherndes Beutetier vielleicht als solches registrieren.

Im Experiment wurden, um dies zu prüfen, einer Anzahl von Tieren die Fühler vollständig amputiert; der Beutefang vollzog sich aber trotzdem ganz normal. Die Fliegen werden erst belauert, wobei die Wanze mit dem Kopf den Bewegungen der Beute folgt, und dann plötzlich gepackt. Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß für den Beutefang der Staubwanzen die Antennen nicht unbedingt erforderlich sind, sondern das Bewegungssehen an erster Stelle in Frage kommt. Die gut ausgebildeten gewölbten Augen nehmen einen großen Teil des beweglichen Kopfes ein und sind befähigt, ein weites Feld zu überblicken. Als ausgesprochene Superpositionsaugen sind sie außerdem der rein nächtlichen Lebensweise der Tiere angepaßt.

Das Bestreben der Staubwanzen, sich in dunklen Winkeln und Spalten zu verstecken, läßt auf eine *negative Phototaxis* der Tiere

schließen. Wurde den Wanzen in den Versuchsschalen irgendein dunkler Unterschlupf geboten, so suchten sie ihn immer auf. Ebenso suchen die Tiere in unbeschatteten Gefäßen immer die vom einfallenden Licht am geringsten erhellte Stelle auf. Bei Beschattung einer Hälfte der Zucht-schale mit einem schwarzen Papier waren sämtliche Tiere nach 1—2 Std an dieser Stelle anzutreffen.

Zum Nachweis der negativen Phototaxis wurde nun folgende Versuchsanordnung gewählt: Eine weiße Lauffläche von 125 cm Länge und 60 cm Breite war an dem einen Ende mit zwei Lichtquellen versehen, so daß an dieser Seite eine Helligkeit von 250 Lux gemessen wurde. In der Mitte der Laufplatte betrug die Helligkeit 6 Lux und am unteren Ende nur noch 2 Lux. Auf diese Art und Weise war nun ein Lichtgefälle entstanden, in dem sich die Versuchstiere bewegten. Die Tiere wurden vor der Lichtquelle auf die Platte gebracht, und zwar mit dem Kopf gegen das Licht gerichtet. Nur wenige Sekunden stutzten die Versuchstiere, bevor sie sich um 180° drehten und in gerader Richtung etwa bis zur Mitte der Platte am Licht wegliefen. Von dieser Stelle aus liefen sie oft nicht mehr geradlinig, da die Helligkeit an den Seiten der Lauffläche hier nur noch sehr gering war..

Bei allen durchgeführten Versuchen zeigte es sich, daß die Tiere den einfallenden Lichtstrahlen durch die Flucht zu entgehen suchen, und daß die Richtung des Laufes immer zu den dunkelsten Punkten der Lauffläche führte. Die bei einer Helligkeit von 150 Lux ausgeführten Versuche zeigten die gleichen Ergebnisse. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Larven ohne Ausnahme eine längere Orientierungszeit bei der Abkehr vom Licht zeigten als die Imagines.

Scototaxis. *Reduvius personatus* zeigt eine ausgesprochene scoto-taktische Reaktion. Sämtliche Larvenstadien und die Imagines reagieren in gleicher Weise bei folgender Versuchsanordnung. Eine halbkreisförmige, aus weißem Papier angefertigte Arena (Durchmesser 50 cm, senkrechte Höhe 50 cm) war in gleichen Abständen von zwei vertikalen schwarzen Streifen von je 10 cm Breite ausgekleidet. Genau in der Mitte über der Arena befand sich eine Lichtquelle. Eine unter der Lampe angebrachte Milchglasscheibe sorgte für eine möglichst diffuse Verteilung des Lichtes.

Die Versuchstiere wurden auf die Mitte des Durchmessers der Arena gebracht und zeigten in 98 von 100 Fällen ein gerichtetes Laufen auf die schwarzen Streifen, also eine deutliche Scototaxis.

Die Versuche wurden erweitert, indem die schwarzen Streifen durch kleinere schwarze Felder ersetzt wurden. Diese bedeutend kleineren schwarzen Flächen wurden in der gleichen weißen Arena ebenso von den Tieren angelaufen wie die schwarzen Streifen.

Alle Versuche wurden bei verschiedenen Lichtintensitäten ausgeführt, wobei sich auf dem Boden der Arena die Helligkeiten von 250, 150 und 50 Lux ergaben. Bei der geringen Helligkeit von 50 Lux war noch die gleiche Reaktion der Tiere zu beobachten wie bei 250 Lux.

II. Chemischer Sinn.

Die Frage nach dem Vorhandensein eines ausgeprägten chemischen Sinnes bei *Reduvius personatus* ist, wie die im folgenden beschriebenen Versuche zeigen werden, zu verneinen. Schon die Lebensweise dieser Raubwanze, die ihre Beute mit Hilfe der gut entwickelten Augen wahrnimmt, läßt nicht auf eine gute Ausbildung des chemischen Sinnes schließen. Das Opfer wird, wie vorher schon beschrieben, ausschließlich an seiner Eigenbewegung erkannt; Geruchs- oder Geschmackssinn spielen dabei keine Rolle.

Das Vorhandensein eines Geruchssinnes wurde auf zweierlei Weise untersucht. Auf einem quadratischen Filtrierpapier (Kantenlänge 80 cm) wurde mit einer stark riechenden chemischen Flüssigkeit ein großer Kreis gezogen. Das Versuchstier in der Mitte des Kreises begann sogleich auf dem Filtrierpapier zu laufen. Kam es in die Nähe des Flüssigkeitsstreifens, so zeigte es keinerlei Reaktion, sondern blieb in manchen Fällen sogar auf dem stark riechenden Streifen sitzen. Alle Versuche zeigten, daß diese Duftstreifen weder ein Hindernis noch eine Grenze für die Staubwanzen darstellten. Es wurde auf diese Weise die Wirkung von Xylol, Benzol, Buttersäure, Essigsäure, Essigester und Capronsäure untersucht (konzentrierte Lösungen).

Für die zweite Methode zur Untersuchung des Geruchssinnes wurde die Maskierung der Larven herangezogen. Zu den Versuchen wurden frisch gehäutete, noch nicht maskierte Larven des letzten Stadiums genommen. Diese Tiere bekamen nun zur Maskierung feinpulverisierte stark riechende Substanzen geboten. Es wurden dazu verwendet: Chinin, Benzoessäure, Zitronensäure, Pfeffer, Nelken und Muskat. Der durchdringende Geruch dieser Stoffe konnte von den Larven offenbar überhaupt nicht wahrgenommen werden, denn bald nachdem ein wenig eines solchen Stoffes in die Zuchtschale gegeben wurde, begannen die Tiere sich eifrig zu maskieren. Die Larven von *Reduvius personatus* können sich offensichtlich nicht über die Beschaffenheit des Stoffes orientieren, mit dem sie sich maskieren. Aus meinen Untersuchungen dürfte mit einiger Sicherheit hervorgehen, daß *Reduvius personatus* überhaupt keinen Geruchssinn besitzt. Es wäre möglich, daß ein ganz spezialisierter Geruchssinn — etwa für bestimmte in der Sexualzeit wirkende Duftstoffe — vorhanden ist. Dies wurde nicht näher untersucht.

III. Farbensinn.

Im Zusammenhang mit der Maskierung ausgeführte Versuche zeigen eindeutig, daß die Tiere keinerlei Farbauswahl treffen. Frischgehäuteten

Larven wurde grellbunter feinsten Staub zur Maskierung geboten. Mit Hilfe von weißem Mehl und Speisefarben wurden verschieden gefärbte Substanzen hergestellt. Die Larven bekamen roten, blauen, grünen, gelben und weißen Staub geboten, außerdem feinen Sand. War nur eine Farbe zugegen, so maskierte sich die Larve mit dieser einen. Waren zwei oder mehrere Farben geboten, so wurde keine Wahl getroffen und keine der anwesenden Farben bevorzugt, sondern das Tier maskierte sich mit demjenigen Staub zuerst, den es mit den Tarsen zuerst berührte. In vielen Fällen war ein einziges Tier nach mehreren Stunden vollkommen bunt gefleckt, da es an jedem der 6 verschieden bunt gefärbten Staubhäufchen gescharrt hatte. Die Ergebnisse der ausgeführten Versuche weisen daraufhin, daß *Reduvius personatus* keinen ausgeprägten Farbensinn besitzt, denn wäre ein Unterscheidungsvermögen für einzelne Farben vorhanden, so würden sich die Tiere wahrscheinlich nicht mit bunten Staub maskieren, sondern immer nur mit grauen und unauffälligen Stoffen. Obwohl sich die Larven im Experiment mit grellem, buntem Staub ebenso wie mit gleichzeitig gebotenem Sand maskierten, spricht das nicht gegen eine Schutzmaßnahme, sondern macht es lediglich wahrscheinlich, daß die Tiere verschiedene Farben nicht unterscheiden können. In ihrer natürlichen Umwelt benötigen die Larven von *Reduvius personatus* einen derartigen Sinn auch nicht, da sie hier keinen bunten Staub vorfinden und dementsprechend keine Wahl zu treffen haben.

IV. Der Feuchtigkeitssinn.

Im Gegensatz zum chemischen Sinn scheint der Feuchtigkeitssinn von *Reduvius personatus* ziemlich ausgeprägt zu sein. Zur Untersuchung des Feuchtigkeitssinnes wurde die Feuchtigkeitssorgel verwandt, die auf dem Prinzip der feuchten Salze (ZWÖLFER 1932) beruht. Es handelt sich dabei um einen Laufsteg aus feinem Maschendraht, der sich über fünf durch Querwände getrennte Abteilungen erstreckt. Der Laufsteg für die Tiere ist in dem Zinkblechgehäuse der Orgel befestigt, so daß von unten und den beiden Seiten feuchte Luft den Laufsteg umgibt. Nach oben ist das Blechgehäuse mit einer Glasplatte luftdicht abgeschlossen, um den Luftaustausch nach außen zu verhindern und gleichzeitig ein gutes Beobachten der Tiere zu ermöglichen. Im Laufsteg, in dem sich die Tiere nun aufhalten, sind durch die fünf mit kleinen Schubladen versehenen Fächer fünf verschiedene Feuchtigkeiten zu erzielen. Zu diesem Zweck wurden die Schubladen mit ZnCl_2 , CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NaCl und KNO_3 gefüllt. Die drei ersten Salze kamen trocken in die Fächer, während NaCl und KNO_3 mit destilliertem Wasser angefeuchtet wurden.

Die Ausmaße der benutzten Orgel betragen: 6 cm Höhe, 12 cm Breite und 60 cm Länge. Die Ausmaße des Laufsteges betragen: 3,5 cm Breite und 3 cm Höhe. Alle Versuche wurden bei normaler Zimmer-

temperatur (20° C im Mittel) ausgeführt, so daß während der Versuche keine wesentlichen Schwankungen in der Orgel auftraten. Die Messungen in der Orgel ergaben für die verschiedenen Salze die folgenden Feuchtigkeitswerte:

ZnCl_2	CaCl_2	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	NaCl	KNO_3
38% r. F.	42% r. F.	50% r. F.	75% r. F.	85% r. F.

dabei wurde jeweils in der Mitte des Laufsteges über den betreffenden Salzen mit einem Haar-Hygrometer gemessen.

Die Versuche wurden mit Imagines und Larven des letzten Stadiums durchgeführt. Ein Tier kam jeweils 24 Std in die Orgel. Alle 12 Std wurde kontrolliert, an welcher Stelle sich die Wanze aufhielt. Zur ersten Versuchsreihe wurden normale Imagines benutzt. 55% der Tiere hielten sich nach 12 Std über CaCl_2 und 45% über ZnCl_2 auf. Nach 24 Std waren 99% aller Versuchstiere an den gleichen Stellen aufzufinden; d. h. daß die normalen Tiere eine relative Luftfeuchtigkeit von ungefähr 35–50% bevorzugten. Selbst, wenn ein Tier nach 12 Std von seinem Platz vertrieben wurde, war es nach weiteren 12 Std wieder an der gleichen Stelle anzutreffen. Es besteht also kein Zweifel, daß die Staubwanzen ein Feuchtigkeitsempfinden aufweisen, da eine Vielzahl von Versuchen immer zu den gleichen Ergebnissen führte.

Zur zweiten Versuchsreihe wurden dieselben Tiere wie vorher herangezogen. Es waren ihnen nun aber beide Antennen völlig amputiert worden. Die Bedingungen in der Orgel waren die gleichen wie vorher. Nach den ersten 12 Std schon konnte in allen Fällen ein anderes Verhalten der Tiere beobachtet werden. Sie fanden sich nun nicht mehr über bestimmten Salzen und Feuchtigkeiten, sondern regellos in der Orgel verstreut. Offenbar hatten sie die Orientierung verloren, denn nach 24 Std befanden sie sich abermals in einer anderen Feuchtigkeitsatmosphäre. Nur 8% der geschädigten Tiere waren nach 24 Std an der gleichen Stelle wie nach 12 Std zu finden.

Die Versuchsergebnisse besagen also, daß normale Staubwanzen sich mit Hilfe ihrer Antennen über die relative Feuchtigkeit orientieren können. Sie ziehen eine niedere relative Luftfeuchtigkeit einer höheren vor. Antennenlose Tiere dagegen finden sich in der Feuchtigkeitsorgel über allen Salzen, können die Luftfeuchtigkeit also nicht mehr wahrnehmen; d. h. daß sie mit den Antennen gleichzeitig die Feuchtigkeitsrezeptoren eingebüßt haben müssen.

Die dritte Versuchsreihe wurde mit normalen Larven des letzten Stadiums durchgeführt. Sie zeigten im wesentlichen das gleiche Verhalten wie die Imagines. 45% der Versuchstiere hielten sich über CaCl_2 auf, 53% über ZnCl_2 und 2% über $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Alle Larven waren nach 12 und 24 Std jeweils bei relativen Luftfeuchtigkeiten zwischen 25 und 60% aufzufinden.

Zur vierten Versuchsreihe wurden denselben Larven die beiden ersten Antennenglieder amputiert, so daß sie nur noch die beiden Basalglieder besaßen. Das Verhalten war nicht wesentlich verschieden von dem der normalen Larven. Bis auf einige wenige Ausnahmen befanden sich die Tiere bei 35—60% relativer Luftfeuchte.

Bei der fünften Versuchsreihe wurden den Larven die Antennen vollständig amputiert. Schon nach 12 Std ergab sich ein verändertes Bild und nach abermals 12 Std fanden sich die Tiere meist wieder an anderen Stellen vor. Es war nun absolut keine Regelmäßigkeit mehr im Verhalten der antennenlosen Larven zu erkennen. Die Tiere saßen verstreut bei den verschiedensten Feuchtigkeiten in der Orgel.

Die Versuchsergebnisse aus diesen Beobachtungen führen zu dem gleichen Resultat wie die Versuche mit den Imagines. Normale Tiere bevorzugen eine niedere, zwischen 35 und 60% liegende relative Luftfeuchtigkeit, während antennenlose offenbar die Orientierung im Feuchtigkeitsgefälle verloren haben. Bei den Larvenversuchen kommen nun noch die Tiere mit nur zwei Antennengliedern hinzu, die sich zu 90% wie normale Tiere verhielten. Das würde also besagen, daß sich die Staubwanzen mit zwei Basalantennengliedern noch ihre bevorzugte Luftfeuchtigkeit wählen können, also auch noch Feuchtigkeitsrezeptoren besitzen müssen. Die Feuchtigkeitsrezeptoren wären demnach nicht nur auf den Antennen-Endgliedern lokalisiert, sondern auch auf den Basalgliedern zu finden. Da im Experiment allein mit Hilfe der Basalglieder eine fast normale Orientierung im Feuchtigkeitsgefälle möglich war, möchte ich annehmen, daß die Mehrzahl der Feuchtigkeitsrezeptoren auf den Basalgliedern, wenn nicht überhaupt nur da zu finden ist. Diese experimentellen Beobachtungen bedürfen noch der Ergänzung durch histologische Untersuchungen.

Das im Experiment festgestellte Verhalten der Staubwanzen stimmt mit dem natürlichen Verhalten der Tiere in der Freiheit überein. Genau wie *Reduvius personatus* in der Feuchtigkeitsorgel relativ niedrige Feuchtigkeiten bevorzugt, so suchen auch die Wanzen in ihrer natürlichen Umgebung solche Stellen auf, an denen die Luftfeuchtigkeit nach Möglichkeit gering ist. Diese Annahme wird durch die an anderer Stelle schon beschriebenen Fundorte der Staubwanzen bekräftigt.

Zusammenfassung.

1. Die Staubwanzen werden in menschlichen Behausungen gefunden; die Imagines halten sich meist auf trockenen Dachböden auf, während die Larven mitunter auch in Mauerritzen anzutreffen sind. *Reduvius personatus* lebt rein nächtlich und räuberisch.

2. Imagines und Jugendstadien der Staubwanzen ernähren sich von lebenden Insekten. Das Beutetier kann beträchtlich größer sein als die

angreifende Wanze. Die Beute wird erst belauert, dann gefangen und durch den giftigen Speichel gelähmt, ehe sie ausgesaugt wird.

3. *Reduvius personatus* ist in der Lage, sehr lange Zeit ohne Nahrung zu leben. Larven des letzten Stadiums können nach einer Mahlzeit 6 Monate ohne jegliches Futter auskommen.

4. Im Experiment gelang es, Staubwanzen zur Aufnahme von Säugetierblut (Maus) zu bringen. Gelegentlich werden Menschen gestochen; es handelt sich aber hierbei sicher nur um Abwehrreaktionen, nicht um Parasitismus.

5. Die drei ersten Jugendstadien der Staubwanze sind ausgesprochen kannibalisch, ältere Larven und Imagines dagegen nicht.

6. Bei der Kopulation hängt das Männchen seitlich auf dem Rücken des Weibchens, wobei das Männchen das Weibchen mit den Beinen vollständig umfaßt.

7. Die Eiablage findet immer nachts statt. Die Eier werden in Mindestabständen von 15 min einzeln abgelegt. Es produzieren sowohl begattete als auch unbegattete Weibchen Eier, wobei die Eier der letzteren nicht zur Entwicklung gelangen. Die Eizahl je Weibchen ist individuell verschieden, die Höchstzahl der abgelegten Eier eines Weibchens betrug 187. Die Dauer der Eientwicklung ist von der Temperatur abhängig. Sie beträgt bei einer Durchschnittstemperatur von 25,5° C 17—22 Tage.

8. Das Schlüpfen des Embryos wird durch die Tätigkeit eines aus vielen kleineren Zähnchen bestehenden Eischalensprengers vorbereitet und unterstützt.

9. Die Staubwanzen haben einen streng jahreszeitlich gebundenen Lebenszyklus. Die Eier werden im Frühjahr abgelegt, als Jugendstadien verbringen die Tiere den Sommer und Herbst und überdauern als Larven des letzten Stadiums den Winter. Im Frühjahr vollzieht sich die Imaginalhäutung, mit der die Tiere geschlechtsreif werden.

10. Die postembryonale Entwicklung ist durch eine konstante Anzahl von Häutungen gekennzeichnet. Einschließlich der Embryonalhäutung, die sich während des Schlüpfvorganges vollzieht, machen die Tiere 6 Häutungen durch. Die Dauer der postembryonalen Entwicklung ist von der Nahrung und der Temperatur abhängig. Unter natürlichen Bedingungen beträgt die Entwicklungszeit 9—12 Monate. Im erwachsenen Zustand können die Staubwanzen bis zu 7 Monate alt werden.

11. Die Larven von *Reduvius personatus* maskieren sich aktiv mit den Hinterbeinen. Die Schmutzteilchen werden dabei von kleinen spitzen Cuticularfortsätzen festgehalten, die den ganzen Körper der Larve bedecken.

12. An den beiden Vorderbeinpaaren der erwachsenen Staubwanzen finden sich an den Tibienspitzen Putzbürsten, die zur Reinigung der Antennen und des Rüssels dienen.

13. Die Augen sind sehr gut ausgebildet; sie dienen in der Hauptsache dem Bewegungssehen und damit dem Beutefang. *Reduvius personatus* ist sehr lichtscheu. Negative Phototaxis und Scototaxis sind einwandfrei nachweisbar.

14. Ein ausgeprägter chemischer Sinn konnte nicht festgestellt werden.

15. Die Larven der Staubwanzen sind offenbar nicht befähigt, einzelne Farben zu unterscheiden. Jedenfalls erfolgt eine Maskierung mit verschieden gefärbtem Staub ohne jede Auswahl.

16. Sämtliche Stadien von *Reduvius personatus* haben einen ausgeprägten Feuchtigkeitssinn. Normale Tiere bevorzugen niedrigere Feuchtigkeiten (35—60% r. F.), während antennenlose Tiere kein Wahlvermögen gegenüber verschiedenen Feuchtigkeiten mehr zeigen. Der Schluß erscheint berechtigt, daß sich die Feuchtigkeitsreceptoren auf den Antennen befinden.

Literatur.

FABRE, J. H.: Le Réduve a Masque. Souvenirs Entomologiques, Huitième sér. Paris (1936). — GÖTZ, B.: Tageszeit und Insektenaktivität. Naturwiss. Rdsch. 1949, H. 6, 257—261. — HEYMONS, R.: Über Eischalensprenger und den Vorgang des Schlüpfens aus der Eischale bei den Insekten. Biol. Zbl. 46 (1926). — IMMEL, R.: Biologische Beobachtungen an der Staubwanze (*Reduvius personatus* L.). Zool. Anz. 152, 96—98 (1954). — JEFFREY, W. R.: A Note on the life-history of *Reduvius personatus* L. Entomologist's Monthly Magazine, XX. London 1909. — KLEIN-KRAUTHEIM, F.: Beitrag zur Kenntnis der Staubwanze (*Reduvius personatus*). Ber. oberhess. Ges. Natur- u. Heilkde., Naturwiss. Abt. 15, 103—107 (1932). — MADEL, W.: Beobachtungen an der Staubwanze *Reduvius personatus*. Parasitenkde. 15, 102—108 (1951). — READIO, P. A.: Studies on the Eggs of some Reduviidae. The University of Kansas Science Bulletin, XVI, 1926. — WEBER, H.: Biologie der Hemipteren 1930. — ZWÖLFER, W.: Methoden zur Regulierung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Z. angew. Entomol. 14 (1932).

Dr. R. IMMEL, Mainz, Ritterstraße 14.

Aus dem Zoologischen Institut der Technischen Hochschule Darmstadt.

ÜBER DEN EINFLUSS EXOGENER FAKTOREN
(ERNÄHRUNG, TEMPERATUR, LEBENSRAUM)
AUF WACHSTUM, KÖRPERGRÖSSE UND LEBENSDAUER
VON *CHIROCEPHALUS GRUBEI* DYB*.

Von

HARALD KALLINOWSKY.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1955.)

Inhalt.	Seite
I. Einleitung	196
II. Material und Fundstellen	197
III. Allgemeine Methodik und Kulturbedingungen	198
IV. Einfluß der Ernährung	199
1. Einleitende Bemerkungen	199
2. Ergebnisse	199
a) Erneuerungskoeffizient S. 199. — b) Hungerversuche S. 201. —	
c) Versuche mit verschiedener Ernährung S. 203.	
V. Einfluß der Temperatur	205
1. Einleitende Bemerkungen	205
2. Ergebnisse	206
a) Wachstum und Lebensdauer von <i>Chirocephalus grubei</i> in seinem	
natürlichen Biotop S. 206. — b) Einfluß der Temperatur auf Wachs-	
tum und Lebensdauer (experimentelle Untersuchungen) S. 208.	
VI. Einfluß der Größe des Lebensraumes	211
VII. Einige biologische Bemerkungen	216
1. Vorkommen, zeitliches Auftreten und Lebensdauer von <i>Chirocephalus</i>	
<i>grubei</i> DYB.	216
2. Größenverhältnis und Häufigkeit der Geschlechter	217
Zusammenfassung	218
Literatur	219

I. Einleitung.

Von den äußeren Faktoren sind Temperatur, Ernährung und Größe des Lebensraumes sicher diejenigen, welche am stärksten Wachstum, Körpergröße und Lebensdauer beeinflussen und auch quantitativ erfaßt werden können.

Die Arbeit auf diesem Gebiet ist vor allem bei den Evertebraten keineswegs so intensiv, als es wünschenswert wäre. Bei Untersuchungen

* Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. E. ANKEL, der mir die Bearbeitung dieses Themas übertrug, danke ich für die reichen Anregungen zu den vorliegenden Untersuchungen und für sein reges Interesse, das er meiner Arbeit stets entgegenbrachte.

in dieser Richtung ist die Verwendung einzelner experimentell vorteilhafter Tierarten besonders verbreitet. Die aus den gewonnenen Ergebnissen abgeleiteten Regeln können aber nicht ohne weiteres auch auf andere Formen bezogen werden.

Bei den Branchiopoden sind die Cladoceren, vor allem die Gattung *Daphnia* das „Versuchskaninchen“ der Zoologen. Die Untersuchung experimentell weniger zugänglicher Typen wird dadurch teilweise in den Hintergrund gedrängt.

Dabei treten gerade, wie WAGLER (1926/27) mit Recht feststellt, in kaum einer anderen Ordnung des Tierreiches so viele Erscheinungsformen auf wie bei den Branchiopoden, wo selbst innerhalb der Unterordnungen keine Beziehungen von Körperbau und Verwandtschaft vorzuliegen scheinen.

So dürften die Untersuchungen an einem Vertreter der *Anostraca*, die wohl mit Recht an der Basis des Arthropodenstammes stehen, von einem gewissen Interesse sein. Während der Untersuchungen, die sich durch die Jahre 1950—1953 erstreckten, wurde gleichzeitig versucht, einige Fragen zu der noch wenig bekannten Biologie von *Chirocephalus grubei* DYB. zu klären. Ferner wird eine kurze Beschreibung der Kulturbedingungen gegeben. Eine ausführlichere Einleitung und Problemstellung ist zweckmäßigerweise den einzelnen Abschnitten vorangestellt.

Meinen besonderen Dank für wertvolle Hilfe und Ratschläge den Herren Dr. R. FRITSCH und Dr. L. KÖRNER; sowie Herrn Professor Dr. v. STOSCH für die Beratung in bakteriologischen Fragen.

II. Material und Fundstellen.

Als Versuchsmaterial fand ausschließlich die Art *Chirocephalus grubei* DYB. Verwendung, einer der wenigen Euphyllopoden¹ unserer heimischen Fauna. Die Fundstellen verteilen sich auf ein zwischen Groß-Gerau und Mörfelden gelegenes etwa 25 km² großes Waldgebiet, das lediglich durch einige Wiesen und Kahlschläge unterbrochen ist. Dieses Forstgebiet setzt sich zu einem Teil aus Mischwald, zum anderen aus Aue-Laubwald zusammen.

Die Vorkommen sind, soweit mir bekannt ist, in der Literatur noch nicht erwähnt oder beschrieben worden, wie überhaupt die Angaben über ein Auftreten der Euphyllopoden im westlichen Deutschland weitaus spärlicher sind als solche aus dem östlichen Teil.

Die Wohnstätten von *Chirocephalus grubei* in dem erwähnten Gebiet sind auch hier die für sie typischen temporären Kleinwässer, wie sie schon WESENBERG LUND (1939) treffend charakterisiert hat.

¹ Der Begriff Euphyllopoden ist hier noch im alten Sinne gebraucht. Nach einer neueren Arbeit von PREUSS (1949) ist die alte Einteilung der Branchiopoden nicht mehr aufrechtzuerhalten. Er möchte diese Gruppe in *Anostraca* und *Phyllopoda* (*Notostraca* und *Onychura*) aufgelöst sehen.

Im Verlauf der Jahre 1950—1953 fand ich in dem beschriebenen Gebiet etwa 15 Tümpel, in denen die Art *Chirocephalus grubei* DYB. anzutreffen war. An einem Fundort konnte gleichzeitig die den Notostraken zugehörige Form *Lepidurus productus* BOSC. festgestellt werden.

In ihrer räumlichen Ausdehnung variieren diese temporären Gewässer erheblich. So besitzen z. B. die kleinsten der Tümpel zur Zeit des höchsten Wasserstandes eine Oberfläche von nur 4—5 m², während die größten eine Fläche von 100—120 m² bedecken. Die Tiefen schwanken zwischen 20 und 100 cm. Submerse Pflanzen fehlen völlig. An Schwimmpflanzen kommt vereinzelt *Lemna* vor. Die Wasserzufuhr erfolgt allein durch Regen oder Schmelzwasser. Der p_H-Wert schwankt zwischen 6,6 und 7,6. Die Tümpel sind Mitte Juli in der Regel völlig ausgetrocknet.

Da sich die Methode, das Ausgangsmaterial aus Schlammkulturen zu gewinnen, als zu unsicher erwies, wurden die benötigten Metanauplien jeweils einer gerade auftretenden Population entnommen. Dieses Verfahren erfordert eine dauernde Kontrolle der Fundstellen, um das Auschlüpfen der ungefähr 0,6 mm großen Larven nicht zu verpassen. Dieses erfolgt in der Regel ziemlich gleichzeitig und die Tiere können sodann leicht mit einem feinmaschigen Käseher gefangen und in geeigneten Gefäßen transportiert werden.

III. Allgemeine Methodik und Kulturbedingungen.

Bei den Untersuchungen an *Chirocephalus grubei* wurden die gefundenen Mittelwerte im allgemeinen aus den Messungen an jeweils 50 Individuen gewonnen. Da Männchen und Weibchen in annähernd gleichem Verhältnis vorkommen und auch etwa die gleiche Größe aufweisen (vgl. allgemeine biologische Bemerkungen), ergibt sich eine eingipflige Verteilung und es konnte von einer getrennten Untersuchung der Geschlechter abgesehen werden.

Die absolute Körperlänge (mit Furcalanhängen) der lebenden Tiere wurde auf zwei Wegen gefunden. Die Metanauplien kamen einzeln in einen Wassertropfen (Hohlschliff-Objektträger) und wurden unter dem Mikroskop mit einem Meßokular ausgemessen. Die älteren Stadien kamen in ein Glasschälchen und die Länge wurde auf darunterliegendem Millimeterpapier abgelesen. Die Meßergebnisse wurden sodann variationsanalytisch ausgewertet und graphisch dargestellt.

Eine zusammenfassende Anleitung über Zucht und Haltung der Euphyllopoden gibt WAGLER (1925). Zahlreiche Hinweise finden sich fernerhin bei MATHIAS (1937).

Ihrer Lebensweise in kleinen ephemeren Tümpeln entsprechend lassen sich die Tiere stark einengen.

Ich selbst fand eine Wassermenge von etwa 50 cm³ je Individuum (ausgewachsen) selbst bei höheren Temperaturen und fehlender Durchlüftung ausreichend.

Ein wichtiger Faktor ist das verwendete Wasser. Leitungswasser, selbst wenn nicht gechlort, ist zu verwerfen. Dies dürfte seinen Grund darin haben, daß *Chirocephalus grubei* an das in der Regel sehr mineralarme Regen- oder Schmelzwasser angepaßt ist und das zumeist stark kalkhaltige Leitungswasser nicht vertragen wird. Am besten verwendet man Regen- oder Schmelzwasser sowie Tümpelwasser, welches vor Gebrauch filtriert wird. Zu den Temperatur- und Nahrungsbedingungen sei auf die betreffenden Abschnitte: Einfluß der Temperatur und Ernährung verwiesen.

Erwähnt sei noch die richtige Dosierung des Futters. Einmal kann es bei zu großer Nahrungszugabe zu einer Verstopfung und Verklebung der Filtriereinrichtungen kommen, zum anderen gehen nicht aufgenommene Futterreste leicht in Fäulnis über und vergiften das Wasser.

Es ist deshalb vorteilhafter, mehrmals geringe Mengen Nahrung zusetzen. Ein Zeichen dafür, daß die Tiere gut gefüttert sind, ist der Darminhalt, der durch den Körper durchscheinend zu erkennen ist. Er muß normalerweise das Abdomen durchgehend bis zur Spitze erfüllen.

IV. Einfluß der Ernährung.

1. Einleitende Bemerkungen.

Während über den Einfluß der Ernährung für die Cladoceren eine relativ reiche Literatur¹ vorliegt, ist dieselbe bei den Anostraken recht spärlich. Es wurde deshalb der Versuch unternommen, den Einfluß verschiedener Nahrungsstoffe auf das Wachstum von *Chirocephalus grubei* zu prüfen. Fernerhin wurde versucht, die dabei auftretenden Fragen zu dem in der Ernährungsbiologie wichtigen Erneuerungskoeffizienten und der Lebensdauer bei absolutem Hungern zu klären.

2. Ergebnisse.

a) **Erneuerungskoeffizient.** Mit dem von NAUMANN geprägten Begriff Erneuerungskoeffizient wird die Geschwindigkeit bezeichnet, mit der die aufgenommene Nahrung den Darm passiert. Dieser Größe kommt auf dem Gebiet der Ernährungsbiologie eine wesentliche Bedeutung zu. Die Anostraken sind Formen, die wie die planktonischen Cladoceren als aktive, mobile Filtratoren (NAUMANN) zu bezeichnen sind; d. h. Nahrungserwerb und Bewegung sind gekoppelt. Das durch die Filtrierkämme der Beinpaare vom Wasser abfiltrierte Seston wird wahllos ohne jegliche Zerkleinerung aufgenommen.

¹ Vgl. R. FRITSCH (1953); daselbst zahlreiche Literaturangaben.

Während die Geschwindigkeit, mit welcher die Erneuerung des Darminhaltes erfolgt, bei den planktonischen Cladoceren experimentell gut untersucht worden ist, liegen für die Anostraken nur wenige Beobachtungen vor.

LUNDBLAD (1921) stellte für ein Weibchen von *Tanymastix lagunae* fest, daß der Erneuerungskoeffizient 1 Std nicht überschreitet. MATHIAS (1937) fand für *Artemia salina*, die mit Stärke gefüttert wurde, eine Zeit von $\frac{3}{4}$ —1 Std.

Eine genauere Untersuchung dieser Verhältnisse bei *Chirocephalus grubei* erschien deshalb angebracht. Zu diesem Zwecke wurden drei Größen variiert: 1. die qualitative Zusammensetzung des Sestons, 2. die Temperatur, 3. die Körpergröße der Versuchstiere.

Als Seston fand *Chlamydomonas spec.*¹, Bäckerhefe, Stärke, Eiweiß, Eigelb und Teichschlamm (Detritus) Verwendung. Die *Chlamydomonas* wurden in einer Knopflösung gezogen. Zur Überführung wurden sie abzentrifugiert und mehrmals mit Wasser abgespült, um ein Einbringen von Salzen in die Zuchtgefäße zu vermeiden. Bäckerhefe und Stärke wurden in etwas Wasser in Suspension gebracht und in dieser Form zugegeben. Hühnereiweiß und Eigelb wurden gekocht, sodann getrocknet und zu einem staubfeinen Pulver zerrieben, welches ebenfalls in Suspension verfüttert wurde. Der Zusatz von Teichschlamm erfolgte im feuchten Zustand.

Während *Chlamydomonas* und Bäckerhefe in bezug auf die Teilchengröße eine verhältnismäßig homogene Zusammensetzung zeigten (die *Chlamydomonas* hatten einen Durchmesser von etwa 7—8 μ , die Bäckerhefe maß 8—10 μ), war sie bei Eigelb, Eiweiß und Stärke wesentlich ungleichmäßiger. So bewegten sich die Teilchengrößen für Eigelb zwischen etwa 6—12 μ , Eiweiß etwa 10—16 μ , Stärke etwa 10—18 μ . Die Zusammensetzung des Teichschlammes (Detritus) war zu inhomogen, um einen Durchschnittswert angeben zu können.

Untersucht wurden in jedem Falle 10 Tiere. Diese kamen in einen Behälter mit dem jeweilig verschiedenen Seston. Nach etwa 60 min

Tabelle 1.

Gebotenes Seston	Teilchengröße in μ	Erneuerungskoeffizient in min	
		Mittelwert	mittlerer Fehler
Temperatur: 8—10° C.			
Teichschlamm		32,10	± 0,53
<i>Chlamydomonas</i>	7— 8	38,00	± 0,50
Bäckerhefe	8—10	48,30	± 0,60
Eigelb	6—12	47,90	± 0,48
Eiweiß	10—16	58,20	± 0,47
Stärke	10—18	71,80	± 0,56
Temperatur: 20—22° C.			
Teichschlamm		28,20	± 0,52
<i>Chlamydomonas</i>	7— 8	31,90	± 0,48
Bäckerhefe	8—10	38,10	± 0,60
Eigelb	6—12	37,20	± 0,49
Eiweiß	10—16	43,40	± 0,54
Stärke	10—18	48,30	± 0,50

¹ Die Kultur von *Chlamydomonas spec.* verdanke ich Herrn Dr. R. FRITSCH.

wurde eine in jedem Versuch möglichst quantitativ gleiche Menge fein zerriebenen Carmins zugesetzt. Man kann dann in dem durchscheinenden Darm sehr gut beobachten, wie die mit Carmin gefärbte Nahrung den Darm allmählich völlig erfüllt. Die Zeit, welche zwischen dem Zugeben des Carmins und dem Austreten der ersten carmingefärbten Fäzes aus dem Anus vergeht, stellt den Erneuerungskoeffizienten dar.

Die Untersuchungen wurden stets doppelt ausgeführt, so daß die gewonnenen Werte das Resultat von je 20 untersuchten Tieren darstellen.

Bei Untersuchungen mit Tieren von einer Durchschnittslänge von etwa 8,00, 16,00 und 25,00 mm konnte festgestellt werden, daß die verschiedene Körpergröße keinen erkennbaren Einfluß auf den Erneuerungskoeffizienten ausübt.

Es zeigt sich, daß die Geschwindigkeit der Erneuerung des Darminhaltes vor allem von der Temperatur und der Art der Nahrung abhängig ist.

Die Temperaturabhängigkeit ist nicht erstaunlich, wird doch im allgemeinen die Geschwindigkeit sämtlicher Lebensprozesse durch erhöhte Temperatur gesteigert.

Bei den verschiedenen Futtermitteln zeigt sich, daß die natürliche Nahrung schneller den Darm passiert als die künstliche. Fernerhin scheint ein Zusammenhang mit der Teilchengröße zu bestehen; man findet mit steigendem Durchmesser der Nahrungspartikelchen einen steigenden Erneuerungskoeffizienten (vgl. Abb. 1).

Von Einfluß dürfte auch die Konsistenz und der Wassergehalt der Nahrung sein.

Zwischen der Dichte der Nahrungssuspension und Erneuerungskoeffizient konnte keine Abhängigkeit gefunden werden.

Zu derselben Feststellung gelangt auch NAUMANN (1925) bei Cladoceren. Er bemerkt: „... diese Koeffizienten gelten auch für einen verhältnismäßig geringen Gehalt an Seston im Wasser. Experimentell läßt sich dies sehr schön dadurch zeigen, daß Cladoceren in einem gewöhnlichen — also nicht vegetationsgefärbten — Oberflächenwasser, das mit an und für sich kaum ersichtlichen Spuren von Ultramarin versetzt worden ist, für kurze Zeit gehalten werden. Man wird dann finden, daß die Tiere innerhalb der als Koeffizienten angeführten Zeiten das Ultramarin in ihrem Darm durchaus angereichert haben ...“

b) Hungerversuche. Die Frage, wie lange Cladoceren bei absolutem Hunger leben können, ist ebenfalls verschiedentlich untersucht worden, während für die Anostraken hierüber keinerlei Angaben vorliegen.

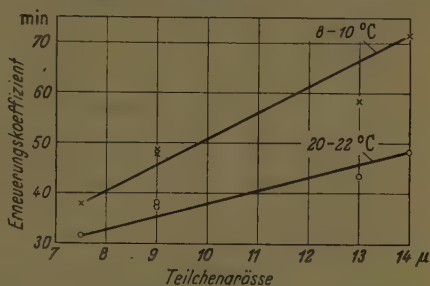


Abb. 1. Abhängigkeit des Erneuerungskoeffizienten von Teilchengröße und Temperatur.

Es seien hier kurz einige an Cladoceren gemachte Beobachtungen angeführt. Während früher angenommen wurde, daß kleine Algen, vor allem Diatomeen

Tabelle 2.

Körperlänge (Durchschnitt) mm	Lebensdauer (in Stunden)	
	Mittelwert	mittlerer Fehler
Temperatur: 6—8° C.		
4,00	41,4	± 4,3
12,00	75,8	± 5,2
23,00	120,6	± 6,8
Temperatur: 20—22° C.		
4,00	10,8	± 0,9
12,00	25,0	± 1,5
23,00	34,6	± 1,9

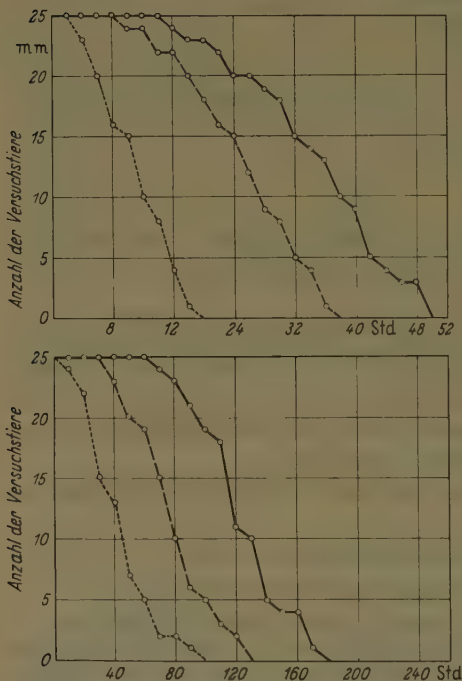


Abb. 2. Überlebenskurve bei absolutem Hungern. Temperatur: 20—22° C. Körperlänge: ——— etwa 23 mm; ——— etwa 12 mm; - - - - etwa 4 mm. Überlebenskurve bei absolutem Hungern. Temperatur: 6—8° C. Körperlänge: ——— etwa 23 mm; ——— etwa 12 mm; - - - - etwa 4 mm.

Hauptnahrung der Daphnien seien, konnten Untersuchungen von STORCH (1924) und NAUMANN (1921) zeigen, daß die Wirkung der Filterleistung der eines Kolloidfilters nahekommt; d. h. daß selbst die Bakterien abfiltriert werden. WOLTERECK (1930) hält deshalb Zentrifugenplankton für die Hauptnahrung der Daphnien. Er mißt aber nur den darin enthaltenen Algen eine größere Bedeutung zu. Im Gegensatz dazu hält NAUMANN (1916) den staubfeinen Detritus nebst den Bakterien für die wichtigste Nährquelle. WOLF (1909) findet, daß *Simocephalus vetulus* in filtriertem Wasser noch 3 Wochen lebt, und WOLTERECK (1931), der Daphnien in filtriertem Wasser hält, stellt bei niedriger Temperatur ebenfalls eine Lebensdauer von einigen Wochen fest. *Moina macrocopa* starb in sterilem destilliertem Wasser immerhin schon am 4. Tage (STUART, MCPHERSON, COOPER 1931), während GELLIS und CLARKE (1935) feststellten, daß gleich nach ihrer Geburt in Berkefeld-Filtraten einer Nährlösung nach BANTA (1921) eingesetzte Daphnien noch geschlechtsreif wurden. Im Gegensatz zu all diesen Feststellungen findet v. DEHN (1931) für *Daphnia* bei absolutem Hungern nur eine durchschnittliche Lebensdauer von 7—8 Std. Die stark abweichenden Befunde der übrigen Autoren führt sie durchweg auf ein ungenügend filtriertes Wasser zurück.

Bei diesen widersprechenden Angaben war es von Interesse, die entsprechenden Verhältnisse bei *Chirocephalus grubei* zu überprüfen, ge-

hören doch die Anostraken in ihrem Nahrungserwerb demselben Typus wie die planktonischen Cladoceren an.

Methodik. Voraussetzung für die Herstellung eines völlig nahrungsfreien Milieus sind bakteriendichte Filter. Verwendung fanden Membranfilter (Satorius-Membranfilter-Gesellschaft, Göttingen), welche die Herstellung eines bakterienfreien Wassers ermöglichen. Es wurde mit Tieren verschiedener Körpergröße und unterschiedlichen Wassertemperaturen experimentiert.

Jeweils 25 mit *Chlamydomonas* ernährte Tiere von durchschnittlich gleicher Länge kamen in einen Behälter mit 500 cm³ nahrungsfreiem Medium. Damit eine völlige Leere des Darmes garantiert war, wurden die Tiere vorher in filtriertes Wasser, in welchem geglähter Kieselgur suspendiert war, gebracht. Der Erneuerungskoeffizient schwankte je nach der Temperatur zwischen 30 und 45 min. Der erfolgte Tod wurde nach dem Stillstand des Herzens bestimmt. Die Ergebnisse sind im folgenden tabellarisch und graphisch dargestellt (Tabelle 3; vgl. Abb. 2).

Bei den Hungerversuchen war von vornherein nur eine relativ kurze Lebensdauer zu erwarten, kommt doch ein völliger Nahrungsentzug in dem natürlichen Biotop praktisch nicht vor. Fernerhin sind die Tiere ständig in Bewegung, was sicherlich einen hohen Energiebedarf zur Folge hat. Die Ergebnisse zeigen vor allem eine starke Abhängigkeit von Temperatur und Körpergröße; d. h. je höher die Temperatur und je kleiner die Körpergröße, um so kürzer kann das Hungern ertragen werden. Erhöhte Temperatur hat einen gesteigerten Stoffwechsel zur Folge, der zu einer schnelleren Aufzehrung der Reservestoffe führt. Bei der Körpergröße dürfte die bei kleineren Tieren ungünstigere Relation Körpervolumen:Körperoberfläche für den schneller eintretenden Tod verantwortlich sein.

e) **Versuche mit verschiedener Ernährung.** Die Nahrung der Anostraken in ihrem natürlichen Biotop dürfte sich mit der der pelagisch lebenden Cladoceren im allgemeinen decken. Für die Haltung im Laboratorium kommen deshalb die für Cladoceren verwandten Futtermittel in Frage. Doch sind die hier gemachten Erfahrungen noch sehr gering. Dies gilt vor allem für künstliches Futter wie z. B. Stärke, Eiweiß usw. Es wurde deshalb eine Reihe von Versuchen unternommen, um den Wert verschiedener Futtermittel im Hinblick auf das Wachstum von *Chirocephalus grubei* zu untersuchen.

Methodik. Jeweils 80 Metanauplien kamen in 3 Liter fassende Glaszylinder, denen die verschiedene Nahrung zugesetzt wurde. Es versteht sich, daß die übrigen exogenen Faktoren wie Temperatur, Licht, pH-Wert usw. ausgeglichen sein müssen. Als Futtermittel fand eine Kultur von *Chlamydomonas spez.*, Bäckerhefe, Stärke, Eiweiß, Eigelb und Teichschlamm (Detritus) Verwendung. Über die Form der Zugabe zu dem Medium wurde schon weiter oben berichtet (vgl. Abschn. Erneuerungskoeffizient).

Ob die Tiere die maximale Nahrungsmenge aufnehmen, ist unschwer am Darminhalt zu erkennen. Dieser ist durch den Körper durchscheinend sichtbar. Er muß das Abdomen bis zur Spitze erfüllen. Wie schon erwähnt, spielt der Gehalt an Seston keine erkennbare Rolle; d. h. auch in einer sehr dünnen Nahrungssuspension werden die einzelnen Teilchen genau so schnell angereichert wie in einer dichteren. Es ist zweckmäßiger, mehrmals geringe Nahrungsmengen zuzusetzen, als eine größere auf einmal, da es bei einer zu großen Dichte der Suspension zu einer Verklebung und Verstopfung der feinen Reusenapparate kommen kann. Den gleichen Effekt bei Fütterung von Daphnien beschreiben R. FRITSCH, PAPANICOLAU, SCHULZE-RÖBBECKS, WAGLER (1925). Ein völliger Wasserwechsel wurde alle 5 Tage vorgenommen. Die Temperatur betrug durchschnittlich 12° C (zwischen

10 und 15° C schwankend). Der p_H -Wert betrug 6,8—7,4. Die Meßergebnisse wurden variationsanalytisch ausgewertet und zum Teil auch graphisch dargestellt (vgl. Tabellenbeilage und Abb. 3).

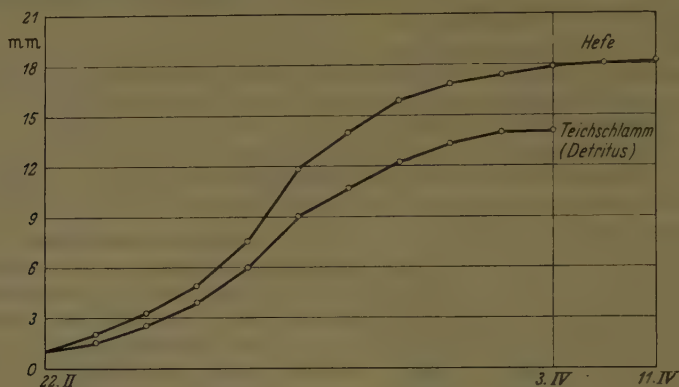


Abb. 3. Wachstum bei verschiedener Ernährung.

Die Fütterungsversuche zeigen, daß *Chirocephalus grubei* die verschiedenartigste Nahrung auszunützen versteht. Tatsächlich hat ja v. DEHN (1931) gezeigt, daß Daphnien, Stärke, Eiweiß und Fett verdauen.

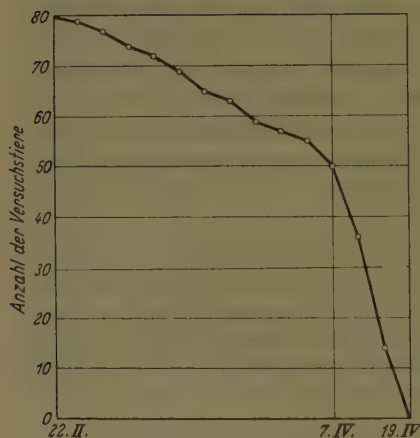


Abb. 4. Überlebenskurve bei Fütterung mit Eiweiß.

Da die Anostraken in bezug auf Nahrungserwerb und Nahrung eine weitgehende Übereinstimmung zeigen, darf bei ihnen wohl ebenfalls eine Ausnutzung dieser 3 Gruppen angenommen werden.

Chlamydomonas, Bäckerhefe, Stärke, Eiweiß und Eigelb erwiesen sich denn auch als nahezu gleichwertige Nahrung, zeigen doch Wachstumsverlauf und erreichte Endgröße nur geringe Differenzen. Lediglich bei Fütterung mit Teichschlamm zeigt sich ein geringeres

Wachstum. Da aber die Zusammensetzung des Teichschlammes wohl stets verschieden ist, kann die Verwendung eines einem anderen Teiche entnommenen Schlammes, der in seiner Zusammensetzung von dem ersten abweicht, zu durchaus anderen Ergebnissen führen.

Die Sterblichkeit war bei den mit Eiweiß gefütterten Tieren am größten (vgl. Überlebenskurve Abb. 4).

Nach Beendigung des Wachstums waren von den 80 eingesetzten Individuen noch etwa 50 vorhanden. Die geringste Sterblichkeit war bei den mit *Chlamydomonas spec.* gefütterten Tieren festzustellen. Die höhere Mortalität bei den mit Eiweiß ernährten dürfte auf durch Fäulnis unverdauter Nahrung entstandene Giftstoffe zurückzuführen sein.

Um einen Einfluß des verschieden großen Lebensraumes auszuschließen, wurden den anderen Behältern so viele Exemplare entnommen, wie an mit Eiweiß gefütterte Tiere starben.

V. Einfluß der Temperatur.

1. Einleitende Bemerkungen.

Unter den exogenen Faktoren, die den Organismus beeinflussen, spielt die Temperatur sicherlich eine bedeutende Rolle und hat deshalb schon frühzeitig zur Feststellung qualitativer wie quantitativer Beziehungen zu Wachstum und Lebensdauer geführt.

Die wichtigste Temperaturabhängigkeit des Wachstums wird ausgedrückt in der BERGMANNschen Regel, die, zunächst nur für homöotherme Tiere, besagt, daß im allgemeinen Tiere der gleichen Art in kühleren Gebieten größer sind als in wärmeren.

Nach RENSCH (1939) sind diese Größendifferenzen auf verschiedene Zellzahl bei gleicher Zellgröße zurückzuführen, woraus weiter geschlossen werden kann, daß bei grösseren Rassen die Zahl der Zellteilungen vergrößert ist.

Wie aber BERTALANFFY (1940) bemerkt, ist die für Homöotherme aufgestellte BERGMANNsche Regel sicher ein Spezialfall eines allgemeinen Gesetzes, macht sich doch eine gleichartige Gesetzmäßigkeit auch bei den Poikilothermen geltend. Während aber im ersten Fall den Größenverschiedenheiten vielfach genetische Unterschiede bzw. die Wirkung der Selektion zugrunde liegen, scheinen Wachstum und Körpergröße bei Poikilothermen von der Temperatur direkt abhängig zu sein.

Der Tiergeographie ist bekannt, daß vielfach bei Kaltwasser- gegenüber Warmwasserformen „Riesenwuchs“ auftritt. Zahlreiche Beispiele hierfür finden sich bei HESSE. Doch auch durch experimentelle Untersuchungen ist die Gültigkeit der Temperaturregel vielfach bestätigt worden. (Zusammenfassungen bei BELEHRADEK (1935) und BERTALANFFY (1940).

Bei Daphnien vermindert sich nach OSTWALD (1904) die Körpergröße mit steigender Temperatur.

Bei den Euphyllopoden liegen in dieser Richtung systematische Untersuchungen nicht vor. Lediglich bei MATHIAS (1937) findet sich die Beobachtung, daß *Branchipus stagnalis* bei Temperaturen über 20° C kleiner bleibt als bei niedrigeren Temperaturen und daß ferner die Lebensdauer verkürzt wird.

Die Beziehung zwischen Lebensdauer und Temperatur ist bei den Entomstraken von großer Bedeutung. Daß mit steigender Temperatur die Lebensdauer vieler Organismen sinkt, ist eine bekannte Tatsache; doch sind die hierbei gemachten Befunde z. B. bei Cladoceren besonders instruktiv. Eine genaue Angabe über die Temperaturabhängigkeit der Lebensdauer von *Daphnia magna* geben McARTHUR und BAILLIE (1929) und SCHULZE-RÖBBECKE (1951).

Wenn R. FRITSCH (1953) feststellt, daß die Lebensdauer niederer Krebse nur bei Haltung im Laboratorium ermittelt werden kann, so ist dies im allgemeinen sicher richtig, wenn auch die gewonnenen Werte mangels Vergleichsmöglichkeiten mit in ihrem natürlichen Habitat aufwachsenden Tieren nur mit einer gewissen Vorsicht aufgenommen werden dürften.

Für Untersuchungen in dieser Richtung ist nun die Art *Chirocephalus grubei* besonders günstig.

Da die Tiere zu einem bestimmten Zeitpunkt beim Füllen der Tümpel aus dem Ei schlüpfen und jährlich nur eine Generation auftritt, kann der Wachstumsverlauf im natürlichen Biotop beobachtet und gemessen werden. Hält man die Tiere gleichzeitig im Laboratorium, so ist eine ausgezeichnete Vergleichsmöglichkeit zwischen Wachstum und Lebensdauer in natürlicher und in künstlich hergestellter Umwelt gegeben.

2. Ergebnisse.

a) Wachstum und Lebensdauer von *Chirocephalus grubei* in seinem natürlichen Biotop. Es wurden 3 zeitlich verschieden auftretende Populationen untersucht. Hierzu wurden in Abständen von 2 oder 4 Tagen jeweils 50 Exemplare der betreffenden Population entnommen und die absolute Körperlänge gemessen. Da Männchen und Weibchen in annähernd gleichem Verhältnis vorkommen und auch etwa die gleiche Größe aufweisen (vgl. Abschnitt biologische Bemerkungen), brauchte eine getrennte Untersuchung nach Geschlechtern nicht stattzufinden.

Die Ergebnisse der Messungen wurden variationsanalytisch ausgewertet und graphisch dargestellt.

Ferner wurde 3mal täglich um 7,00 Uhr, 13,00 Uhr und 19,30 Uhr die Wassertemperatur gemessen und daraus die Tagesdurchschnittstemperatur errechnet. Diese wurde ebenfalls in Form einer Temperaturkurve graphisch dargestellt.

Betrachtet man Wachstum und Lebensdauer der drei in ihrem natürlichen Biotop aufgewachsenen Populationen, so zeigt sich eine deutliche Abhängigkeit von der Jahreszeit.

Die zeitlich früheste Population wurde am 14. 2. 53 gefunden. Die Tiere schwammen unter einer Eisdecke von mehreren Zentimetern und hatten bereits eine durchschnittliche Länge von 5,8 mm. Da nach OEHMICHEN (1921) die Größe der ausschlüpfenden Larven 0,56 mm beträgt, ist das Auftreten dieser Population erheblich früher anzusetzen. Aus dem Wachstumsverlauf anderer untersuchter Populationen kann man das Ausschlüpfen der Metanauplien etwa 20 Tage vorher, also um den 25. 1. 53 festsetzen. Das Wachstum war am 19. 4. 53 beendet. Die Tiere besaßen bis zu diesem Zeitpunkt eine durchschnittliche Länge von etwa 29,5 mm. Bereits am 25. 4. 53 waren die letzten Exemplare verschwunden. Die Lebensdauer übertrifft in diesem Falle die Wachstums-

dauer nur um wenige Tage und beträgt also etwa 90 Tage. Die Durchschnittstemperatur (berechnet aus den Tagestemperaturen) während der gesamten Lebensdauer war $5,2^{\circ}\text{C}$. Eine jahreszeitlich spätere Population trat am 21. 2. 52 auf. Die Metanauplien lebten zu diesem Zeitpunkt ebenfalls unter den Tümpeln überziehenden Eisdecken, hatten aber erst eine durchschnittliche Länge von 0,99 mm. Da der Tümpel am 17. 2. ohne Erfolg untersucht worden war, ist das Ausschlüpfen ungefähr auf den 18. 2. 52 anzusetzen. Das Wachstum war am 27. 4. 52 mit einer Durchschnittslänge von 23,58 mm abgeschlossen. Bei einem Vergleich

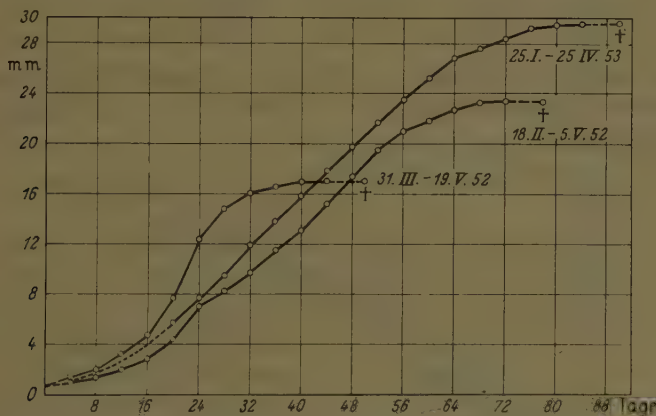


Abb. 5. Wachstum dreier verschiedener Populationen von *Chirocephalus grubei* in ihrem natürlichen Biotop.

der Temperatur- mit der Wachstumskurve ist deutlich zu erkennen, wie Temperaturerniedrigung das Wachstum verlangsamt, zeigt sich doch parallel zu den zwei Tiefwerten der Temperaturkurve die Wachstumskurve geknickt. Die letzten Tiere konnten am 5. 5. 52 festgestellt werden. Daraus ergibt sich eine Lebensdauer von etwa 78 Tagen. Die Durchschnittstemperatur während dieses Zeitraumes betrug $7,9^{\circ}\text{C}$.

Die jahreszeitlich späteste Population schließlich wurde am 2. 4. 52 festgestellt. In Tümpeln, in denen schon eine Population von *Chirocephalus grubei* mit einer Durchschnittslänge von 14,00 mm lebte, wurden durch stärkere Regenfälle um den 30. 3. 52, größere Randpartien unter Wasser gesetzt. Die Folge war, daß sich aus den dort im Vorjahr abgelegten Eiern eine neue Population entwickelte. Dieselbe hatte am 2. 4. 52 eine durchschnittliche Länge von 1,25 mm. Das Wachstum war am 12. 5. 52 beendet und die letzten Exemplare am 19. 5. 52 verschwunden. Es ergibt sich somit eine Lebensdauer von etwa 50 Tagen. Die Durchschnittstemperatur wurde mit $13,5^{\circ}\text{C}$ errechnet.

Zum Vergleich seien die gefundenen Werte nochmals kurz zusammengefaßt (Tabelle 3; vgl. auch Abb. 5).

Es zeigt sich also, daß, je später *Chirocephalus grubei* jahreszeitlich auftritt, desto früher die Entwicklung beendet ist. Um so geringer sind aber die erreichten Endgrößen und Lebensdauer; ein Ablauf, der im

Tabelle 3.

Population	Temperatur (Durchschnitt) °C	Endlänge mm	Lebensdauer in Tagen
25. 1. bis 25. 4.	5,2	29,50	etwa 90
18. 2. „ 5. 5.	7,9	23,58	„ 78
31. 3. „ 19. 5.	13,5	17,05	„ 50

übrigen durchaus zweckmäßig ist, da ja bei höheren Temperaturen die Wohnstätten schneller austrocknen und deshalb eine raschere Entwicklung vonnöten ist.

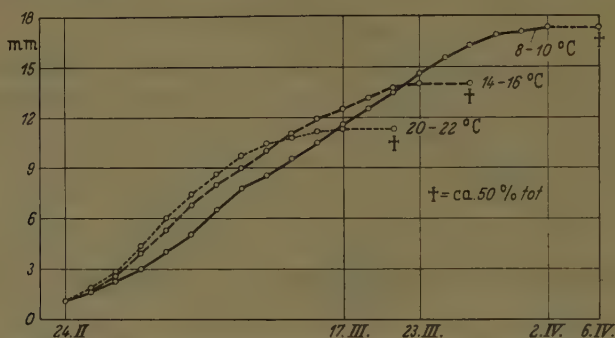


Abb. 6. Wachstum bei verschiedener Temperatur. Ernährung: Teichschlamm (Detritus).

Wenn die so gewonnenen Ergebnisse auch auf den rechten Weg deuten mögen, erhalten sie dennoch ihren endgültigen Wert erst durch die Isolierung der maßgeblichen Faktoren im Laboratoriumsexperiment, denn die physikalischen Verhältnisse der Aufenthaltsorte sind selten so eintönig, daß daraus der absolut sichere Schluß gezogen werden könnte, sie hätten den Habitus ihrer Bewohner verschuldet.

Es wurde deshalb experimentell der Einfluß der Temperatur auf Wachstum, Körpergröße und Lebensdauer untersucht.

b) Einfluß der Temperatur auf Wachstum und Lebensdauer (experimentelle Untersuchungen). *Versuchsordnung:* In etwa 3 Liter enthaltende Glaszylinder kamen jeweils 80 Metanauplien, welche derselben Population entstammten. In den Behältern wurde die Temperatur auf drei verschiedenen Stufen gehalten, und zwar hatte Gefäß Nr. 1 8—10°C, Nr. 2 14—16°C, Nr. 3 20—22°C.

Die Ernährung war in zwei parallelen Versuchen verschieden. Bei der einen Versuchsreihe fand als Futtermittel Teichschlamm (Detritus),

bei der anderen *Chlamydomonas* Verwendung. Die übrigen Bedingungen (p_H -Wert, Licht usw.) waren ausgeglichen. Die Messung der Tiere und

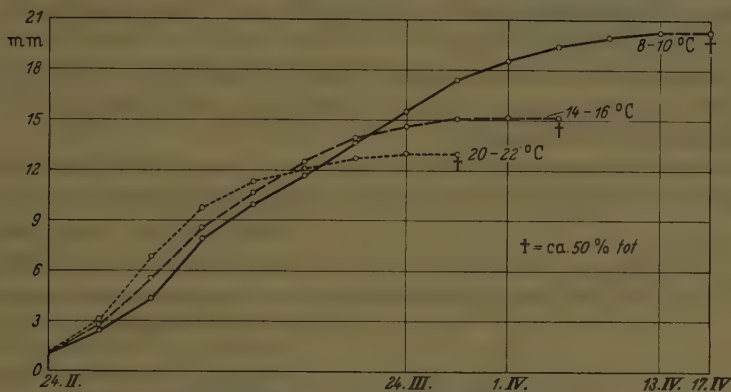


Abb. 7. Wachstum bei verschiedener Temperatur. Ernährung: *Chlamydomonas*.

die Darstellung der gefundenen Werte erfolgte in der schon beschriebenen Weise. Fernerhin wurden die Überlebenskurven konstruiert und die mittlere Lebensdauer berechnet (Tabelle 4; vgl. Abb. 6—9).

Die gefundenen Resultate zeigen deutlich den Zusammenhang zwischen der Temperatur einerseits und erreichter Endlänge und Lebensdauer andererseits und

Tabelle 4.

Temperatur °C	Endlänge mm	Lebensdauer (in Tagen)	
		Mittelwert	mittlerer Fehler
Ernährung: Teichschlamm (Detritus).			
8—10	17,28	42,4	± 1,4
14—16	13,89	33,6	± 1,2
20—22	11,41	27,9	± 1,1

Ernährung: *Chlamydomonas spec.*

8—10	20,10	52,5	± 2,4
14—16	15,29	39,4	± 2,0
20—22	12,90	34,8	± 2,2

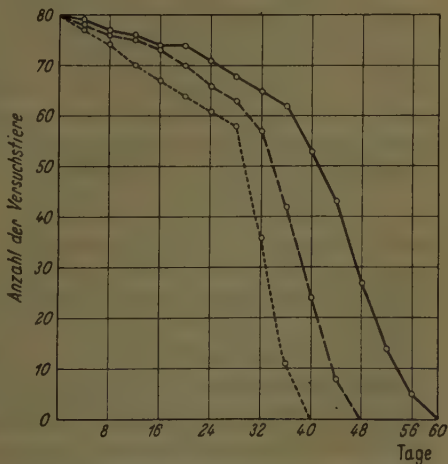


Abb. 8. Überlebenskurven bei verschiedener Temperatur. — 8—10°C; — 14—16°C; - - - 20—22°C. Ernährung: Teichschlamm (Detritus).

bestätigen vollauf die Befunde, die an *Chirocephalus grubei* in seinem natürlichen Habitat gemacht wurden. Die geringere Endlänge und die kürzere Lebensdauer bei der Ernährung mit Teichschlamm ist auf den geringeren Wert dieser Substanz als Nahrungsmittel gegenüber

Chlamydomonas spec. zurückzuführen. Ein Vergleich der Überlebendenkurven (Abb. 8, 9) zeigt, daß der Gewinn an Lebensdauer bei niedrigeren Temperaturen nicht auf Jugend oder Alter beschränkt ist, sondern gleichmäßig erfolgt.

Insgesamt kann gesagt werden, daß die Temperatur einen großen Einfluß auf Wachstum, erreichte Endgröße und Lebensdauer von *Chirocephalus grubei* ausübt.

Diesem Temperatureinfluß dürfte es in erster Linie auch zuzuschreiben sein, daß verschiedene Autoren, welche sich mit den Anostraken beschäftigten, von einigen Arten 2 Rassen annahmen.

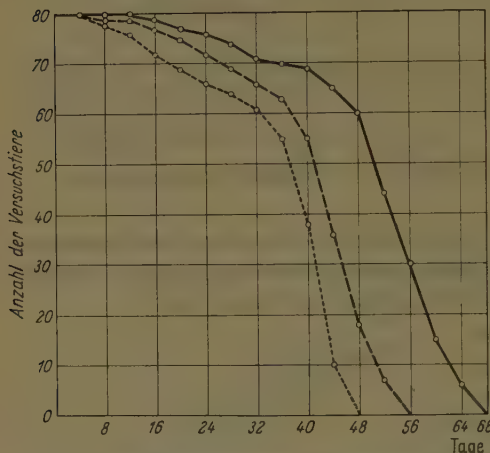


Abb. 9. Überlebendenkurven bei verschiedener Temperatur. — 8–10° C; --- 14–16° C; --- 20 bis 22° C. Ernährung: *Chlamydomonas*.

variable Angaben. So wird z. B. in BRAUERS „Süßwasserfauna Deutschlands“ die Länge für *Branchipus schäfferi* mit 11,5 mm angegeben. In BROHMERS: „Die Tierwelt Mitteleuropas“ dagegen findet man für die gleiche Art eine Länge von 23,0 mm.

Nach den gemachten Beobachtungen bin ich der Meinung, daß es sich bei den Angaben über verschiedene Rassen lediglich um verschieden abgestufte Wachstumsformen bezugsweise Standortmodifikationen, vor allem durch unterschiedliche Temperaturen hervorgerufen, handelt und nicht um erblich fixierte Rassen.

An dieser Stelle seien noch einige Beobachtungen aus den Jahren 1954/55 mitgeteilt, die nach Abschluß dieser Arbeit gemacht wurden.

Am 24. 2. 54 Larven von etwa 1,00 mm Länge unter einer Eisedecke. Die letzten Individuen (23,00–30,00 mm) wurden am 9. 5. 54 beobachtet. Die Lebensdauer betrug also etwa 80 Tage.

Im Juli 1954 sind sämtliche Fundstellen ausgetrocknet. Der Dezember bringt starke Regenfälle, die ein allmähliches Füllen der Tümpel zeitigen.

So berichtet z. B. SIMON von einem Dimorphismus bei *Chirocephalopsis grubei*, *Eubranchipus vernalis*, *Chirocephalus diaphanus* und *Branchipus stagnalis*. Von diesen Arten gebe es eine kleine und große Rasse, die auch im Körperbau kaum verschieden sei. Auch HARTWIG (1893) unterscheidet eine große und kleine Form von *Chirocephalus grubei* und LUNDBLAD berichtet aus Dänemark, daß im Frühjahr 1905 gefundene Individuen von *Chirocephalus grubei* nur einen Zentimeter lang waren und nur wenige Eier hatten. Auch in den Bestimmungswerken findet man für die erreichten Endlängen der Anostraken zum Teil recht va-

Eine genauere Untersuchung der Fundstellen am 18. 12. 54 bleibt ohne Ergebnis.

Am 28. 12. finden sich Larven von etwa 1,00—1,50 mm.

Das Wachstum dieser Population wurde mit der schon beschriebenen Methodik untersucht. Die Messungen wurden in Abständen von etwa 7 Tagen vorgenommen.

Die letzten Tiere fanden sich am 7. 5. 55. Die Durchschnittslänge betrug 31,50 mm.

Es ergibt sich also für diese Population die erstaunlich hohe Lebensdauer von etwa 135 Tagen.

Dies wird verständlich, wenn man bedenkt, daß der größte Teil der Entwicklung (etwa 90 Tage) unter einer Eisdecke stattfand; die Temperatur also nie 2—3° C überstieg.

VI. Einfluß der Größe des Lebensraumes.

Von den äußeren Faktoren, die das individuelle Wachstum beeinflussen, erregte die Größe des Lebensraumes schon oftmals das Interesse. Bekannt ist die Erscheinung, daß Frösche und Salamander, die in kleinen Zimmeraquarien gehalten werden, nicht die Dimensionen wie in der freien Natur erreichen. Aber auch dort hat z. B. SCHMEIL gefunden, daß die Individuen der Copepodengattung *Diaptomus* in größeren Wasseransammlungen größer sind als in kleineren. Indessen haben diese Feststellungen einen rein empirischen Charakter und HESSE stellt deshalb mit Recht fest: „... Wenn das Krebschen *Diaptomus* in größeren Teichen größer wird als in kleineren, so mag das an der höheren Temperatur der kleineren Wassermassen liegen ...“ Eine eindeutige Klärung dieser Frage ist also nur durch das Experiment zu erwarten.

Einen Zusammenhang zwischen individuellem Wachstum und der Größe des Lebensraumes zeigten an aquatisch lebenden Tieren:

SEMPER (1872) an *Limnaeus stagnalis* und *Asellus aquaticus*; VERNON (1895) an Echinodermenlarven; HOFBAUER (1902) an Karpfen; BABAK (1906) an Kaulquappen; BILSKI (1921) an Kaulquappen; GOETSCH (1924, 1927/28) an *Hydra*, Planarien, Kaulquappen und Axoloteln; WILLER und SCHNIGENBERG (1928) an Forellenbrut; LANGHANS und SCHREITER (1928) an Karpfen; CRABB (1929) an *Limnea stagnalis*; ADOLPH (1931) an Kaulquappen; PODHRASKY (1932), RUGH (1934), LYNN und EDELMANN (1936) an Kaulquappen.

Nach GOETSCH sind bei Tieren zwei mögliche Fälle zu unterscheiden:

1. Durch die Lebenstätigkeit der Individuen in einem begrenzten Raum entstehen schädliche Exkretionsprodukte; es kommt also zu einer Autointoxikation innerhalb der Bevölkerung und damit zu einer Herabsetzung des Wachstums. Dieser Faktor kommt primär nur bei wenig beweglichen Tieren in Betracht, z. B. Planarien. Er kann durch dauerndes Wechseln des Mediums und dadurch ermöglichte Entfernung der Stoffwechselprodukte ausgeschaltet werden.

2. Bei beweglichen Tieren tritt in einem begrenzten Lebensraum eine dauernde Beunruhigung und Störung ein; welche den Wachstumsprozeß hemmt. Dieser „Störungsfaktor“ macht sich also auch bei ständigem Wechsel des Mediums geltend. Er ist sehr deutlich bei Kaulquappen, bei denen durch starke Besetzung der Behälter das Wachstum verzögert und die Metamorphose herausgezögert wird.

Die hier interessierenden Entomostraken sind in dieser Richtung noch wenig systematisch untersucht worden.

WARREN (1900) stellte fest, daß bei Haltung von *Daphnia magna* in begrenzten Räumen die Länge des Stachels geringer wird und die Vermehrung nachläßt. DE LA VOULX (1924) konnte zeigen, daß zwar die Eireifung bei Daphnien unterbleibt, wenn die einzelnen Tiere in nur 0,5 cm³ Wasser gehalten werden, daß aber der Stoffwechsel im übrigen sehr rege und das Wachstum völlig normal ist. WOLTERECK (1937) schreibt: „... Die Größe des Lebensraumes, in der man mit SEMPER vielfach einen mitgestaltenden Faktor vermutet hat, spielt als solche keine deutliche Rolle, denn man sieht die Crustaceen, sowohl die Cladoceren als Phyllopoden als Gammariden (*Niphargus*) in recht kleinen Wasserbehältern gedeihen und die gleichen Formen usw. annehmen, wie in ihrem natürlichen, weiträumigen Habitat. Cladoceren kann man sogar in auffallend kleinen Kulturgläsern (wenige Kubikzentimeter) unbeschadet ihrer Fortpflanzung und Formgestaltung monatelang weiterzüchten, wenn man nur dafür sorgt, daß die Zahl der Individuen je Kubikzentimeter bei kleinen Rassen nicht größer als etwa 2—3 wird, daß Fäulnis verhindert und genügend Nahrung zugesetzt wird...“ Diese Bemerkungen WOLTERECKS stehen in Widerspruch zu seiner Feststellung, daß die Herstellung von mittleren und minimalen Milieustufen bei Cladoceren durch Kultur in kleinen Gefäßen (Tuben, Salznäpfchen u. dgl.), möglich ist. Bei der mittleren Milieustufe ist nach dem Verfasser Bewegungsenergie, Reaktionsgeschwindigkeit, Pigmentierung und Fettbildung erheblich herabgesetzt, doch findet noch eine regelmäßige Produktion von 1, 2—3 Eiern statt, aus denen sich lebensfähige Tiere entwickeln. Die minimale Milieustufe ist gekennzeichnet durch ein Leben ohne Fortpflanzung bei Herabsetzung von Bewegung, Reizreaktion, Fett- und Blutbeschaffenheit und unsichtbaren Ovarien.

Man findet also in der an sich schon spärlichen Literatur einander widersprechende Angaben, die eine genauere Prüfung des Problems nötig erscheinen lassen.

Die größte Fehlerquelle bei allen Untersuchungen über den Einfluß des Lebensraumes ergibt sich durch die Ernährung. Beinahe alle Experimentatoren setzten ihren Versuchsreihen Nahrung im Überfluß zu und glaubten so, eine befriedigende Lösung gefunden zu haben. Es ist aber, wie schon GOETSCH richtig bemerkt, durchaus nicht gesagt, daß alle Tiere die gleiche Nahrungsmenge zu sich nehmen, ganz davon abgesehen, ob überhaupt eine gleichmäßige Ausnützung der Nahrung stattfindet. Wenn zudem diese Fehlerquelle nicht durch eine genügend große Anzahl von Versuchstieren eliminiert wird, so können die gewonnenen Ergebnisse nicht als gesichert betrachtet werden.

Man müßte also prinzipiell jedes einzelne Tier mit der qualitativ und quantitativ gleichen Nahrungsmenge füttern, eine Aufgabe, die praktisch wohl kaum durchführbar ist.

Hier zeigt sich nun *Chirocephalus grubei* als besonders günstiges Versuchsobjekt.

Die Anostraken sind als aktive mobile Filtratoren Ernährungsautomaten, die das im Wasser enthaltene Seston wahllos abfiltern; d. h. wenn sich die Tiere in einer gleichmäßigen Nahrungspension befinden, so ist jedes Individuum gezwungen, die gleiche Nahrungsmenge aufzunehmen. Es dürfte hier also oben die erwähnte Fehlerquelle ausgeschaltet sein.

Versuchsanordnung. Es wurden 3 Glaszylinder mit 2, 3 und 5 Liter filtriertem Tümpelwasser unter gleichen äußeren Bedingungen wie Temperatur, Licht, pH-Wert

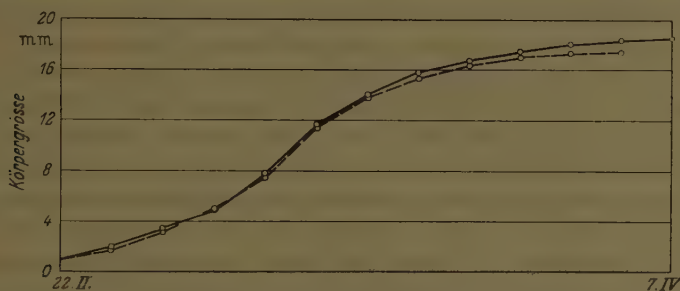


Abb. 10. Wachstum bei verschiedener Größe des Lebensraumes. — 5 Liter; — — — 2 Liter.

usw. aufgestellt. In jeden Behälter kamen 100 Metanauplien von durchschnittlich 0,98 mm Länge. Es standen also jedem Individuum im ersten Falle 20 cm³, im zweiten 30 cm³ und im dritten 50 cm³ Wasser zur Verfügung. Es ist dabei nicht zu vermeiden, daß während der Versuchsdauer eine gewisse Anzahl von Tieren abstirbt. Da diese Verluste nicht in allen Gefäßen gleich hoch sind, würde eine Verschiebung der Größe des Lebensraumes eintreten. Man muß also korrekterweise in den anderen Gefäßen so viele Exemplare wegnehmen oder dazugeben, bis in allen Gefäßen wieder die gleiche Anzahl vorhanden ist.

Bei den Versuchen wurde der erste Weg beschritten, da es schwierig ist, Ersatztiere zu beschaffen, welche die gleiche Durchschnittsgröße haben, sowie dem gleichen Milieu entstammen.

Gefüttert wurde mit *Chlamydomonas spec.* Die Temperatur betrug durchschnittlich 13° C (zwischen 10—16° C schwankend). Eine Erneuerung des Wassers wurde alle 4 Tage vorgenommen. Die Ergebnisse wurden variationsanalytisch ausgewertet und graphisch dargestellt (vgl. Abb. 10).

Die Ergebnisse zeigen, daß, wenn man überhaupt von einem Zusammenhang zwischen Lebensraum und Körpergröße sprechen will, dieser nur in geringem Ausmaße vorhanden ist. Das Wachstum in den Gefäßen von 2 und 3 Liter Inhalt zeigt keinen Unterschied und auch in dem Behälter von 5 Liter ist keine auffallende Steigerung festzustellen.

Nun sind die am Anfang zitierten Autoren mit ihren Experimenten an aquatisch lebenden Tieren fast durchweg zu positiven Ergebnissen gelangt. Wie sind dieselben bei den nahezu negativen Resultaten in

unserem Falle zu erklären? Es erscheint nicht unnötig, zuerst einmal zu definieren, was im allgemeinen unter dem Begriff „Störungsfaktor“ zu verstehen ist.

Bei allen Tieren setzt sich die energetische Bilanz aus zwei Faktoren zusammen; der Nahrungsaufnahme einerseits und dem Wachstumsansatz und dissimilatorischen Verbrauch andererseits. Je größer dieser dissimilatorische Verbrauch nun ist, um so weniger wird für den Wachstumsansatz übrigbleiben; die Tiere werden aber um so mehr Energie verbrauchen, je mehr sie sich bewegen. Die Bewegung ist nun abhängig von dem Grad der Störung und diese wiederum abhängig von der Größe des zur Verfügung stehenden Lebensraumes. Die Wachstumshemmung wäre also hier die Folge einer relativ zu starken Dissimulation.

Man kann sich andererseits auch vorstellen, daß trotz eines Überangebotes an Nahrung die effektive Nahrungsaufnahme nicht konstant ist, da in übersetzten Behältern durch die dauernde Störung der Individuen untereinander dieselben schlechter fressen und dadurch Wachstumsunterschiede auftreten. In diesem Falle würde sich also der „Störungsfaktor“ einfach auf die Abhängigkeit des Wachstums von der Ernährung reduzieren. Zu dieser Annahme kommt z. B. ADOLPH (1931), der, wie die meisten der Experimentatoren mit Kaulquappen arbeitete. Diese Tiere müssen die als Futter dienenden Objekte einzeln durch zielstrebige Handlungen ergreifen. Werden diese Handlungen durch dauerndes Zusammenstoßen mit den übrigen Tieren oder Gefäßwände gestört, so ist leicht einzusehen, daß trotz eines Überangebotes an Nahrung nicht die maximale Menge aufgenommen werden kann. Dagegen sind, wie schon erwähnt, die Anostraken aktive monile Filtratoren, d. h. ihre Nahrung wird automatisch mit einem durch ununterbrochene Bewegung der Beinpaare erzeugten Wasserstrom, der Filtriereinrichtung zugeführt und wahllos zurückgehalten. Diese Bewegungen, welche den Wasserstrom erzeugen, dienen gleichzeitig der Lokomotion, es sind also beide Vorgänge eng gekoppelt.

Da nun die Tiere ständig in Bewegung sind, gleichgültig ob eine Störung durch Anstoßen mit anderen Individuen oder Gefäßwänden stattfindet, ist auch bei allen Tieren in gleicher Nahrungssuspension gleiche Nahrungsaufnahme garantiert, und folglich die Voraussetzung für ein gleichmäßiges Wachstum gegeben.

Der bei häufiger Störung größere Energieverbrauch scheint im Gegensatz zu der Nahrungsaufnahme keine primäre Bedeutung zu haben.

Ich möchte deshalb annehmen, daß das Problem des Wachstums in Beziehung zur Größe des Lebensraumes eine Funktion der Art des Nahrungserwerbes ist; d. h. je leichter die Nahrungsaufnahme gestört werden kann (durch Zusammenstoßen mit anderen Tieren oder sonstigen

Hindernissen), um so stärker wird sich der Zusammenhang zwischen Lebensraum und Wachstum darstellen.

Eine Beobachtung, die sich gut mit den hier gewonnenen Ergebnissen deckt, möchte ich nicht unerwähnt lassen.

Wie schon zu Anfang mitgeteilt, kommt in dem Fundgebiet von *Chirocephalus grubei* auch der den Notostraken zugehörnde *Lepidurus productus* vor, welchen ich ebenfalls von den Jugendstadien an im Aquarium aufzog. Hier erreichten die Tiere niemals auch nur annähernd die Größe der in ihrem natürlichen Biotop lebenden Individuen, obgleich Nahrung im Überfluß vorhanden war und auch die Temperaturen denen im Freien herrschenden angeglichen waren.

Die gleiche Beobachtung machten übrigens A. FRITSCH (1866) und SCHRETTMÜLLER (1908), die beide *Lepidurus productus* in Aquarien aufzogen und mit den in ihrem natürlichen Habitat aufwachsenden verglichen.

Die von mir im Freien untersuchten Tiere hatten eine durchschnittliche Endlänge von etwa 60 mm (einschließlich *Furca*). Die in den Aquarien gehaltenen erreichten nur etwa 36 mm. Dieser recht erhebliche Größenunterschied ist insofern erstaunlich, als man doch bei der relativ nahe verwandten Form *Chirocephalus grubei* nur sehr geringe Differenzen beobachtet. Greift man aber darauf zurück, was oben über die Relation zwischen Wachstum, Lebensraum und Art des Nahrungserwerbes ausgeführt wurde, findet man eine Erklärung.

Die Notostraken, zu denen ja *Lepidurus productus* zählt, gehören einem völlig anderen Ernährungstypus an als *Chirocephalus grubei*. LUNDBLAD bezeichnet z. B. *Lepidurus productus* als Fleischfresser und Raubtier.

Auf jeden Fall muß sich diese Form ihre Beuteobjekte einzeln greifen. Dabei ist es nicht erstaunlich, wenn sich die Tiere in einem eng begrenzten Raum stören und damit die maximale Nahrungsaufnahme verhindert wird, was wiederum ein gehemmtes Wachstum zur Folge hat.

Die geringe Größendifferenz, welche auch bei *Chirocephalus grubei* zu beobachten ist, dürfte 1. auf die Selektion zurückzuführen sein, d. h. schwache Tiere, die unter Laboratoriumsverhältnissen noch künstlich gehalten werden, fallen im Freien Feinden zum Opfer. Zum 2. dürfte ein noch so sorgfältig zusammengesetztes Laborfutter niemals ganz der natürlichen Nahrung entsprechen.

Von Bedeutung mag unter Umständen auch eine sog. „kollektive“ Verdauung sein. Bei Cladoceren steigt nach v. DEHN (1931) bei Überbesetzung die bei Einzelhaltung geringere Wahrscheinlichkeit, daß die Nahrungsteile mehrfach den Darm passieren und dadurch eine bessere Ausnutzung stattfindet. Doch liegen solche Verhältnisse wohl nur bei Nahrung vor, die Zellen mit einer schwer angreifbaren Membran enthält.

So konnten z. B. bei Fütterung mit Bäckerhefe die angedauten Zellen noch im Darmende von *Chirocephalus grubei* nachgewiesen werden. Bei den mit *Chlamydomonas* gefütterten Tieren ergaben Darmuntersuchungen, daß die Algen restlos verdaut und nur noch durch die Färbung des Darmkanals nachweisbar waren. Man darf in diesem Falle also eine relativ gründliche Ausnutzung der Nahrung annehmen.

VII. Einige biologische Bemerkungen.

Es sei hier der Versuch unternommen, einige eigene Beobachtungen mit den sich manchmal widersprechenden Berichten und Meinungen anderer Autoren in Einklang zu bringen.

1. Vorkommen, zeitliches Auftreten und Lebensdauer von *Chirocephalus grubei* DYB.

Wenn SPANDL schreibt: „... In unseren Gegenden kommen Euphyllopoden nur in vorübergehend austrocknenden Gewässern vor, die oft nur zur Zeit der Schneeschmelze, stärkerer Regen oder Überschwemmungen auftreten, sonst aber das ganze Jahr über trocken liegen...“, so ist das auch für die hier beschriebenen Fundstellen zutreffend.

Die Frage, ob die Eier, um den Nauplius das Ausschlüpfen zu ermöglichen, austrocknen und einfrieren müssen, ist schon des öfteren behandelt worden. Die meisten Forscher vertreten die Ansicht, daß zumindest eines, wenn nicht gar beides vonnöten ist. Eine gegenteilige Beobachtung macht PREVOST! Nach ihm soll *Chirocephalus diaphanus* weder der Austrocknung noch des Einfrierens bedürfen. LUNDBLAD (1921) berichtet aus Norwegen und Schweden, daß sich *Lepidurus arcticus* ausschließlich in mehreren Meter tiefen Seen aufhält, die nie austrocknen.

Es ist in diesem Falle natürlich auch möglich, daß die Randpartien der Seen trockengelegt werden und dadurch die dort abgesetzten Eier doch austrocknen bzw. ausfrieren. Für meine Fundstellen konnte ich feststellen, daß sie zwar einen großen Teil des Jahres kein Wasser führen, der Boden aber nicht staubtrocken wird, sondern immer eine gewisse Feuchtigkeit behält. Die Dauer des Frostes ist in den einzelnen Jahren verschieden; doch dürfte ein völliges Fehlen in unseren Breiten kaum vorkommen. Der Zeitpunkt des Ausschlüpfens der Eier ist sicherlich von verschiedenen Elementareinflüssen wie Trockenheit, Frost und Temperatur des Wassers abhängig; möglicherweise handelt es sich darum, daß durch diese Faktoren die das Ei umgebende Schale gelockert wird.

Über die Wachstums- und Lebensdauer sowie ihre Beeinflussung durch die Temperatur wurde schon berichtet. Danach überschreitet die durchschnittliche Lebensdauer die des Wachstums nur um wenige Tage. So wird *Chirocephalus grubei* wohl auch unter günstigen Bedingungen nicht viel älter als 3 Monate.

Für das Absterben der Tiere wird in der Literatur fast durchweg die im Laufe des Frühjahrs sich erhöhende Temperatur verantwortlich gemacht. Dieser Irrtum geht auf Laborversuche zurück, die F. BRAUER (1877) mit *Lepidurus productus* machte. Er meinte gefunden zu haben, daß diese Art nur Temperaturen bis zu 17° C verträgt. Leider wurden diese Angaben, zweifellos ohne Überprüfung, von den späteren Autoren übernommen und auch auf den fast stets vorhandenen Begleiter von *Lepidurus productus*, *Chirocephalus grubei* ausgedehnt. So schreibt z. B. WOLF (1908), der die deutschen Euphyllopoden in Kalt- und Warmwasserformen einteilt: „... die genannten Kaltwasserformen (*Lepidurus productus* und *Chirocephalus grubei*) trifft man schon Mitte März oder Anfang April als vollständig erwachsene Individuen an. Sie fristen ihr Leben solange, bis die Frühlingssonne den Aufenthaltsort über 15° C erwärmt, was dann ein rasches Eingehen der beiden Vertreter zur Folge hat...“ Erst HESSE (1936) wies darauf hin, daß *Lepidurus productus* und *Chirocephalus grubei* nicht daran denken, bei 17° C abzusterben, sondern selbst bei so hohen Temperaturen wie 27° C durchaus mobil sind.

Ich selbst maß Ende April und Anfang Mai an von der Sonne bestrahlten Stellen sogar Temperaturen bis zu 30° C; obwohl die Tiere dieser Temperatur mehrere Stunden ausgesetzt waren, zeigten sie keinerlei Schädigung. Daß auch die Larven sich bei der Temperatur von 20—22° C entwickeln, wurde schon weiter oben berichtet. Es zeigt sich hier wieder einmal, daß zur Klärung ökologischer Verhältnisse allein die Zustände in der freien Natur maßgebend sind, zumindest aber mit den im Laboratorium gewonnenen Ergebnissen übereinstimmen müssen.

Die Einteilung in Kalt- und Warmwasserformen ist also nicht haltbar, zumal z. B. GASCHOTT (1928) gezeigt hat, daß die sog. Wasserform *Triops cancriformis* Temperaturen bis zu 0° C ertragen kann.

Es kann daher *Chirocephalus grubei* auf keinen Fall als stenotherme Form bezeichnet werden, vielmehr muß bei dem weiten Gedeihbereich dieser Organismus in bezug auf die Temperatur die Art geradezu eurytherm genannt werden. Man kann vielmehr annehmen, daß der Tod von *Chirocephalus grubei*, falls die Wohnstätten nicht vorher austrocknen oder sie Feinden (z. B. Molche, Frösche, Dytiscidenlarven) zum Opfer fallen, ein natürlicher ist.

Bei der Angabe von SPANDL über ein Vorkommen bis in den Juli scheint es sich um einen extremen Fall zu handeln, der nicht als Regel angesehen werden kann. Nach eigenen Beobachtungen sind die Tiere nur bis Ende Mai, Anfang Juni anzutreffen.

2. Größenverhältnis und Häufigkeit der Geschlechter.

Auch über die Frage des Größenverhältnisses zwischen Männchen und Weibchen finden sich in der Literatur zum Teil widersprechende Angaben.

V. ZOGRAF (1907) meint, daß bei den Euphyllopoden die Männchen in der Regel größer und kräftiger seien. Dagegen schreibt WAGLER: „... Die Euphyllopoden-

männchen sind größtenteils kleiner als die Weibchen. Nur vereinzelt sollen Ausnahmen vorkommen. So soll *Lepidurus productus* im männlichen Geschlecht größer sein und das gleiche ist wohl auch für *Chirocephalus grubei* der Fall...

Messungen, die ich an je 250 ausgewachsenen Männchen und Weibchen durchführte, ergaben: Männchen Durchschnittslänge 23,45 mm, Weibchen Durchschnittslänge 23,55 mm. 1000 Individuen wurden auf das zahlenmäßige Verhältnis der Geschlechter untersucht. Es fanden sich 489 Männchen und 511 Weibchen, was einem Verhältnis von etwa 50:50% entspricht.

Zusammenfassung.

1. Der Erneuerungskoeffizient von *Chirocephalus grubei* ist abhängig von der Temperatur und der Art der Nahrung, aber unabhängig von der Körpergröße. Je nach den gebotenen Temperatur- und Ernährungsbedingungen konnten Schwankungen zwischen etwa 25 und 75 min festgestellt werden.

2. Die Lebensdauer von *Chirocephalus grubei* in einem völlig nahrungsfreien Milieu ist stark abhängig von Temperatur und Körpergröße. Höhere Temperatur und geringere Körpergröße bewirken eine Herabsetzung der Lebensdauer. Hungerversuche bei verschiedenen Temperaturen mit Tieren unterschiedlicher Körpergröße ergaben je nach der Faktorenkombination Lebensdauern zwischen etwa 10 und 120 Std.

3. Es wurde der Einfluß verschiedenartiger Nahrung (*Chlamydomonas*, Bäckerhefe, Stärke, Eiweiß, Eigelb) auf Wachstum und erreichte Körpergröße untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, daß die genannten Futtermittel trotz ihrer unterschiedlichen Zusammensetzung eine nahezu gleichwertige Nahrung bilden.

4. Es ließ sich nachweisen, daß die Temperatur den stärksten Einfluß auf Wachstum, Körpergröße und Lebensdauer ausübt.

5. Erhöhte Temperatur hat eine Beschleunigung des Wachstums, aber eine Herabsetzung der erreichten Endgröße und Lebensdauer zur Folge.

6. Die erreichten Endgrößen im natürlichen Biotop liegen durchschnittlich zwischen 17,5 und 29,5 mm.

7. Der Gewinn oder Verlust an Lebensdauer bei niedriger bzw. höherer Temperatur ist nicht auf Jugend oder Alter beschränkt, sondern erfolgt gleichmäßig.

8. Die Lebensdauer im natürlichen Biotop schwankt je nach der herrschenden Temperatur zwischen etwa 45 und 90 Tagen.

9. Die durchschnittliche Lebensdauer überwiegt die Wachstumsdauer in der Regel nur um einige Tage (etwa 4—10).

10. Die Größe des Lebensraumes hat keinen erkennbaren Einfluß auf Wachstum und Körpergröße. Es wurde versucht zu zeigen, daß

das Problem des Wachstums in Beziehung zur Größe des Lebensraumes in erster Linie eine Funktion der Art des Nahrungserwerbes ist.

11. Es wurde festgestellt, daß die Art *Chirocephalus grubei* noch bei Temperaturen von 20—22° C gedeiht und selbst Temperaturen von 30° C für mehrere Stunden ohne erkennbare Schädigung verträgt. Sie muß daher im Gegensatz zu der in der Literatur vorherrschenden Meinung nicht als stenotherme, sondern als eurytherme Form bezeichnet werden.

12. Bei *Chirocephalus grubei* sind die erreichten durchschnittlichen Endlängen von Männchen und Weibchen etwa gleich groß.

13. Das zahlenmäßige Verhältnis von Männchen und Weibchen ist nahezu 50:50 %.

14. Es wird eine kurze Beschreibung der Kulturbedingungen für die Art *Chirocephalus grubei* gegeben.

Literatur.

- ADOLPH, E. F.: The size of body and the size of the environment in the growth of tadpoles. Biol. Bull. **61** (1931). — Body size as a factor in metamorphosis of tadpoles. Biol. Bull. **1931**. — BABAK, E.: Experimentelle Untersuchungen über die Variabilität der Verdauungsröhre. Arch. Entw.mechan. **21** (1906). — BELEHRADEK, L.: Temperature and living matter. Protoplasma-Monogr. **8** (1935). — BERTALANFFY, L.: Theoretische Biologie. Bd. Stoffwechsel und Wachstum. Berlin 1942. — BILSKI, F.: Über den Einfluß des Lebensraumes auf das Wachstum der Kaulquappen. Pflügers Arch. **188** (1921). — BRAUER, F.: Beiträge zur Kenntnis der Phyllopoden. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **75** (1877). — CLAUS, C.: Zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung von Branchipus stagnalis und Apus. Abh. kgl. Ges. Wiss. Göttingen **18** (1873). — CRABB, E. D.: Grows of a pond snail Lymnaea stagnalis as indicated by increase in shell size. Biol. Bull. **56**, 41—64 (1929). — DEHN, M. v.: Untersuchungen über die Verdauung von Daphnien. Z. vergl. Physiol. **13** (1931). — FRITSCH, A.: Über das Vorkommen von Apus und Branchipus in Böhmen. Verh. zool. bot. Ges. Wien **16** (1866). — FRITSCH, R. H.: Die Lebensdauer von Daphnia spec. bei verschiedener Ernährung, besonders bei Zugabe von Pantothensäure. Z. wiss. Zool. **157** (1953). — GASCHOTT, O.: Beobachtungen und Versuche an Triops cancriformis. Zool. Anz. **75** (1928). — GOETSCH, W.: Lebensraum und Körpergröße. Biol. Zbl. **44** (1924). — Die Körpergröße der Tiere und die sie bestimmenden Faktoren. Naturwiss. **15**, 792—799 (1927). — Untersuchungen über wachstumshemmende Faktoren. Zool. Jb. **45** (1928). — GELLIS, S. S., u. G. L. CLARKE: Organic matter in dissolved and in colloidal forms as food for Daphnia magna. Physiologic. Zool. **8**, 127 (1935). — HARTWIG, W.: Verzeichnis der lebenden Krebse der Provinz Brandenburg. Berlin 1893. — HESSE, E.: Kleinere Beiträge zur Arthropodenfauna der Mark. Märk. Tierwelt **1**, 105—106 (1935). — Welche Höchsttemperaturen verträgt Lepidurus apus unbeschadet. Zool. Anz. **120** (1937). — Über Vorkommen und Verbreitung der Phyllopoden Chirocephalus grubei, Triops cancriformis und Lepidurus apus in der näheren und weiteren Umgebung von Berlin. Märk. Tierwelt **15** (1936). — HESSE, R.: Die BERGMANNSCHE Regel. Naturwiss. **1925**. — Tiergeographie auf ökologischer Grundlage. Jena 1924. — Ökologie der Tiere. In Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. 17.

1932. — HESSE, R., u. F. DOFLEIN: Tierbau und Tierleben, Bd. II. Leipzig u. Berlin 1914. — HOFFBAUER, C.: Über den Einfluß des Wasservolumens auf das Wachstum der Fische. Allg. Fischereiz. 27 (1902). — HONIGMANN, H. L.: Die deutschen Euphyllopoden. Bl. Aquar. u. Terrar.kde 32 (1921). — KAMMERER, F.: Methoden der experimentellen Variationsforschung. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 3. 1937. — KEILHACK, L.: Phyllopoda. In A. BRAUER, Die Süßwasserfauna Deutschlands, H. 10. 1909. — KNÖRRICH, J.: Studien über die Ernährungsbedingungen der Daphnien. Plöner Ber. 1901. — LANGHANS, V.: Der Raumfaktor in der praktischen Teichwirtschaft. Nachrichtenbl. Tierz. u. Fischerei 1, 85—88, 97—106. — LANGHANS, V., u. F. SCHREITER: Die Raumfaktorenversuche an der Forschungsstation für Fischzucht und Hydrobiologie in Hirschberg. Nachrichtenbl. Tierz. u. Fischerei 1, 145—150 (1928). — LUNDBLAD, O.: Vergleichende Studien über die Nahrungsaufnahme einiger schwedischer Phyllopoden nebst synonymistischen, morphologischen und biologischen Bemerkungen. Ark. Zool. (Stockh.) 13, Nr 16 (1920/21). — LYNN, W. G., and A. EDELMANN: Crowding and metamorphosis in the tadpole. Ecology 17 (1936). — MATHIAS, P.: Biologie des Crustaces Phyllopoetes. Bibliotheque soc. Philomatique des Paris 1937. — MCARTHUR, J. W., and W. H. T. BAILLIE: Metabolic activity and duration of life. 1. Influence of temperature on longevity in *Daphnia magna*. 2. Metabolic rates and their relations to longevity of *Daphnia magna*. J. of Exper. Zool. 53 (1929). — NAUMANN, E.: Spezielle Untersuchungen über die Ernährungsbiologie des tierischen Limnoplanktons. Lunds. Univ. Årsskr., Adv. II 1921, 17. — ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 2. 1925. — OEHMISCHEN, A.: Die Entwicklung der äußeren Form des Branchipus grubei. Zool. Anz. 53 (1921). — OSTWALD, W.: Experimentelle Untersuchungen über den Saisondimorphismus bei Daphniden. Arch. Entw.mechan. 18 (1904). — PAPANTICOLAU, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Fortpflanzungsverhältnisse bei Daphniden (*Simocephalus vetulus* und *Moina rectirostris* var. *Lilljeborgii*). Biol. Zbl. 30, 689, 737, 753, 784 (1910). — PODHRASKY, J.: Über den Einfluß des Lebensraumes auf das Wachstum der Tiere. Roux' Arch. 127 (1932). — PREUSS, G.: Über den Bau und die Muskulatur der Gliedmaßen der Anostraken und Phyllopoda. Diss. Kiel 1950. — PRZIBRAM, H.: Methodik der Experimentalzoologie. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 1. 1925. — RENSCH, A.: Klimatische Auslese von Größenvarianten. Arch. Naturgesch., N. F. 8 (1939). — Typen der Artbildung. Biol. Rev. 14 (1939). — Neuere Probleme der Abstammungslehre. 1947. — RUGH, R.: The space factor in the growth rate of tadpoles. Ecology 15 (1934). — SCHREITMÜLLER, W.: Einiges über Zucht und Fundstellen von *Apus productus* und *Branchipus grubei* DYB. Wschr. Aquar. Terrar.kde 1908. — SCHULZE-ROBBECKE, G.: Untersuchungen der Lebensdauer, Altern und Tod bei Arthropoden. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 62 (1951). — SEMPER, C.: Die natürlichen Existenzbedingungen der Tiere. Leipzig 1880. — SPANDL, H.: Euphyllopoda. In P. SCHULZE, Biologie der Tiere Deutschlands, Teil 14. 1925. — STUART, C. A., MACPHERSON and H. J. COOPER: Studies of bacteriologically sterile *Moina macrocopa* and their food requirements. Physiologic. Zool. 4 (1931). — STORCH, O.: Cladocera. In Biologie der Tiere Deutschlands, Teil 14. 1925. — Morphologie und Physiologie des Fangapparates der Daphniden. Erg. Zool. 6 (1924). — VAULX, DE LA: C. r. Acad. Sci. Paris 174, Nr 26 (1924). — VERNON, H. M.: Effects of environment on echinoderm larvae. Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond. Ser. B 186, 577—632 (1895). — WAGLER, E.: Branchiopoda. In KÜKEN-THALS Handbuch der Zoologie, Bd. 3. 1926. — Phyllopoden. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 2. 1925. — WARREN, E.: On the reaction of *Daphnia magna* to certain changes in it's environment. Quart.

J. Microsc. Sci. **43** (1900). — WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler und Mediziner. Jena 1948. — WESENBERG-LUND, C.: Biologie der Süßwassertiere. Wirbellose Tiere. Wien 1939. — WILLER, A., u. E. SCHNIGENBERG: Untersuchungen über das Wachstum bei Fischen. 1. Über den Einfluß des Raumfaktors auf das Wachstum der Bachforellenbrut. Z. Fischerei **25**, 263—290 (1927). — WOLTERECK, R.: Über die Spezialität des Lebensraumes, der Nahrung und der Körperformen der pelagischen Cladoceren und über ökologische Gestaltsysteme. Biol. Zbl. **48**, 521 (1928). — Technik der Variation- und Erblichkeitsanalyse bei Crustaceen. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 3. 1937. — WOLF, E.: Die geographische Verbreitung der Phyllopoden, mit besonderer Berücksichtigung Deutschlands. Verh. Dtsch. Zool. Ges., 18. Jahresverslg 1908. — WOLF, M.: Ein einfacher Versuch zur PÜTTERschen Theorie von der Ernährung der Wasserbewohner. Internat. Rev. Hydrobiol. **2** (1909). — ZOGRAF, N. v.: Phyllopodenstudien. Z. wiss. Zool. **86** (1907).

Dr. HARALD KALLINOWSKY, Mörfelden (Hessen), Westendstr. 40.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen.

UNTERSUCHUNGEN ZUR PHYSIOLOGIE DER BEGATTUNG
UND BEFRUCHTUNG DER SCHLAMMSCHNECKE
LYMNAEA STAGNALIS L.

Von

HANS-JOACHIM HORSTMANN.

Mit 25 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. März 1955.)

Inhalt.	Seite
A. Einleitung und Problemstellung	223
B. Material und Methoden	224
I. Aufzucht und Haltung der Tiere	224
II. Operationsmethodik	225
C. Begattung und Eiablage	227
I. Die Begattung und die Speicherung des Spermas	227
1. Die Übertragung des Spermas bei der Kopulation	227
2. Weg und Schicksal des Kopulationsspermas	228
3. Die Bedeutung der Befunde für die Besamung der Eier	230
II. Die Beziehungen zwischen Begattung und Eiablage	231
1. Prüfung dieser Beziehungen bei <i>Lymnaea stagnalis</i>	231
2. Die Analyse der durch eine Begattung gegebenen Faktoren	233
III. Die Fortpflanzung unbegatteter Schnecken	237
1. Die Frage nach der Bedeutung des Receptaculum für die besamen-	
den Spermien	237
2. Weitere Untersuchungen zur Frage einer Nachreifung der Spermien	238
3. Die Bedeutung des Receptaculum für die Ovulation bei unbegat-	
teten Schnecken	239
D. Die Vorgänge im Receptaculum seminis nach einer Begattung	240
I. Die chemische Untersuchung des Receptaculuminhaltes	240
1. Methodik	240
2. Die Untersuchung auf niedermolekulare Eiweißbausteine	240
3. Das Auftreten der Aminosäuren im Receptaculum	241
4. Das Schwinden der Aminosäuren	244
5. Die Frage nach der Bedeutung der Aminosäuren für die Ovulation	247
II. Das histologische Bild des Receptaculumepithels	247
III. Die Deutung der Befunde	249
E. Zur Frage der Bevorzugung der Fremdspermien bei der Befruchtung	250
I. Über ein genetisch bedingtes Gehäusemerkmal bei <i>Lymnaea stagnalis</i>	250
II. Die Bedeutung der Fremdspermien bei einkreuzender Begattung	253
III. Die Bedeutung der Fremdspermien bei ovulationsauslösender Begat-	
tung	255
IV. Versuch zur Klärung der physiologischen Reifung der Spermatozoen	259
F. Die Bedeutung der Befunde für die Fortpflanzungsphysiologie der Pulmo-	
naten	261
Zusammenfassung	265
Literatur	267

A. Einleitung und Problemstellung.

Alle Pulmonaten sind Zwitter; jeder Acinus ihrer Gonade bildet zugleich Eier und Spermien. Daher ist es nicht weiter verwunderlich, daß Schnecken vieler Arten in strenger Isolierung befruchtete und entwicklungsfähige Eier legen können. DE LARAMBERGUE (1939) hat diese Arten in einer bedeutenden Abhandlung über die Selbstbefruchtung der Pulmonaten zusammengestellt. Demgegenüber gibt es jedoch auch Arten, die sich nur nach einer Begattung vermehren können.

Aus diesem Sachverhalt wurde häufig geschlossen, daß die eigenen Spermien in Spermoviduct und Befruchtungstasche — den Ort der Besamung — physiologisch unreif seien. Erst im Receptaculum seminis sollen die während einer Kopulation übertragenen Spermatozoen heranreifen und damit befruchtungsfähig werden. Dieser Auffassung gemäß müßten die Spermien der sich isoliert fortpflanzenden Schneckenarten in das eigene Receptaculum gelangen. Bei den Basommatophoren, die in der Regel getrennte Geschlechtsöffnungen besitzen, könnte dies während einer Selbstbegattung geschehen (v. BAER 1835); bei den Stylommatophoren hingegen könnten die eigenen Spermien über das Atrium in das Receptaculum einwandern (KÜNKEL 1916, IKEDA 1937).

Im Receptaculum seminis aller bisher daraufhin untersuchten Pulmonatenarten erleiden die Spermatozoen eine weitgehende Zersetzung der Geißeln, wobei die Köpfe isoliert werden. Dies wurde von einigen Autoren (KÜNKEL 1916, IKEDA 1929, 1937, RICHTER 1935) als sichtbarer Ausdruck einer Spermienreifung gedeutet. Andere Forscher (BAUDELLOT 1863, DE LARAMBERGUE 1939) sehen jedoch darin lediglich einen Abbau überzähliger Spermien. Die Eier werden vielmehr von begeißelten Spermien besamt, wie PERROT (1939, 1940) gerade für die Objekte KÜNKELS, *Arion empiricorum* und *Limax maximus*, feststellte.

Diese Befunde stellen die Bedeutung des Receptaculum für eine Spermienreifung in Frage. Andererseits liegen jedoch Beobachtungen vor, die eine Reifung der Spermatozoen zu bestätigen scheinen. BOYCOTT und Mitarbeiter (1930) fanden nämlich bei ihren Versuchen zur Vererbung der Linkswindung bei *Lymnaea (Radix) peregra*, daß vorher isoliert gehaltene Schnecken nach einer Begattung früher Eier legten als isolierte Tiere ohne Begattung. Darüber hinaus wird nach den genetischen Untersuchungen dieser Forscher das Fremdsperma vor dem eigenen bei der Befruchtung der Eier bevorzugt. Erst im Laufe der weiteren Eiablagen gewinnt das Eigensperma immer mehr an Vorrang, was zwanglos wohl als Folge einer Erschöpfung des Vorrats an Fremdspermien erklärt werden kann. DE LARAMBERGUE (1939) konnte letztere Beobachtung an *Bulimus contortus* bestätigen.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich folgende, noch ungeklärte Fragen ableiten:

1. Müssen die Spermatozoen in das Receptaculum eindringen, um befruchtungsfähig zu werden? Dient demnach das Receptaculum seminis einer Spermienreifung, oder werden in ihm nur überzählige Spermatozoen abgebaut?

2. Welche Faktoren lösen nach einer Begattung die früher einsetzende Legetätigkeit aus?

3. Spricht die Bevorzugung der Fremdspermien bei der Befruchtung für eine Reifung dieser Spermatozoen? Wodurch wäre sie bedingt?

Vorliegende Arbeit will versuchen, zur Lösung dieser Probleme beizutragen¹.

B. Material und Methoden.

I. Aufzucht und Haltung der Tiere.

Für die Untersuchungen wurden stets selbstgezüchtete, meistens durch Selbstbefruchtung entstandene Schnecken verwendet. Dadurch war die Gewähr eines gleichaltrigen und genetisch weitgehend gleichwertigen Ausgangsmaterials gegeben.

Die Eimassen wurden sofort nach ihrer Ablage in Glasdosen überführt, die mit Aquariumwasser gefüllt waren. Bei Zimmertemperatur schlüpften die Tiere nach etwa 15 Tagen. Sie wurden dann in veralgte Aquarien mit abgestandenem Wasser umgesetzt und mit zartem, vorher durch Kneten mürbe gemachtem Kopfsalat gefüttert. Während der Lebensdauer der Tiere war Kopfsalat nahezu ihr ausschließliches Nahrungsmittel.

Bis zu einem Alter von 5—6 Wochen wurden die aus einer Eimasse geschlüpften Tiere (gewöhnlich 40—90 Schnecken) in Aquarien mit 12 Liter Inhalt gehalten. Die Aquarien wurden in einem Raum des Institutes, der im Winter geheizt war, vor den nach Süden weisenden Fenstern aufgestellt. Alle 3—4 Tage wurden die Tiere in ein weiteres Aquarium gleicher Größe umgesetzt. Das alte Becken wurde gereinigt und frisch mit Leitungswasser gefüllt. Vor seiner Neubesetzung blieb jedes Becken einige Tage stehen, damit das Leitungswasser die Raumtemperatur annehmen und seinen Chlorgehalt abgeben konnte.

Im Alter von 5—6 Wochen wurden die Tiere isoliert. Sie hatten zu dieser Zeit eine Schalenlänge von 11—14 mm erreicht. Ovariotestis wie Spermoviduct enthielten weder Spermien noch Eier, so daß die Schnecken bis zu diesem Alter bedenkenlos zusammengehalten werden konnten. Nach ihrer Isolierung wurden die Tiere in Aquarien gehalten, die durch Glasplatten unterteilt waren. Jeder Schnecke stand eine Wassermenge

¹ Herrn Professor Dr. W. NEUHAUS bin ich für die Überlassung des Themas und für wertvolle Anregungen zu Dank verpflichtet. Für die Bereitstellung von Arbeitsplatz und apparativer Ausrüstung danke ich Herrn Professor Dr. H. J. STAMMER sowie auch Herrn Professor Dr. W. WUNDER für die Überlassung von Hilfsmitteln.

von 200—400 ml zur Verfügung. Bei sonnigem Wetter wuchsen die Schnecken bei reichlicher Salatfütterung und regelmäßiger Wassererneuerung sehr rasch heran. Ein Längenzuwachs von 1 mm je Tag war keine Seltenheit. Bis zu ihrer Heranziehung zu den Versuchen blieben die Tiere in diesen Behältern.

II. Operationsmethodik.

Zur Klärung der Probleme mußten einige Operationen am Genitaltrakt vorgenommen werden. Zu diesem Zweck wurden die Tiere mit

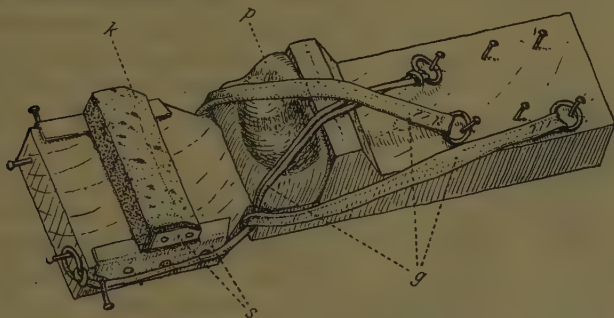


Abb. 1. Operationsbrett. *g* Gummibänder; *k* Korkplatte; *p* Paraffinblock; *s* Aluminiumschienen.

einem Narkotikum betäubt, das folgende Zusammensetzung hatte:

- 16 ml abgestandenes Aquariumwasser,
- 5 ml einer 0,5%igen wäßrigen Chloretonlösung,
- 2 Spatelspitzen Urethan (etwa 40—42 mg).

Das Narkotikum entsprach demnach einer 0,125%igen Chloreton- und einer 0,2%igen Urethanlösung. Diese Mischung erwies sich experimentell als am günstigsten. Die reinen Narkotika sind weniger geeignet. Urethan erregt die Tiere zu stark und wirkt erst in relativ starker Dosis betäubend; Chloreton¹ hingegen betäubt zwar gut, nötigt die Tiere aber zum Rückzug in die Schale. Die Schnecken blieben 25—30 min in der auf 25—28° C erwärmten Mischung. Sie waren danach relativ schlaff und empfindungslos.

Die Operationen wurden auf einem eigens dafür konstruierten Operationsbrett ausgeführt (s. Abb. 1). Das betäubte Tier wurde in der Höhlung eines Paraffinblocks (*p*), welche der Schalenform angepaßt war, mit Hilfe von Gummibändern (*g*), die über die Schale liefen, festgehalten. Der Fuß der Schnecke wurde mit 2 Insektennadeln, die seitlich durch die Muskulatur der Sohle gestochen wurden, auf einer Korkplatte (*k*) befestigt. Durch Vorziehen der auf Aluminiumschienen (*s*) laufenden

¹ Trichlor-tertiär-butylalkohol.

Korkplatte wurde sodann der Fuß gestreckt und dadurch das Operationsgebiet freigelegt. Der Paraffinblock ist je nach der Schalengröße der zu operierenden Tiere und nach der Art der Operation auswechselbar. Der in Abb. 1 dargestellte Block ist für Operationen an der rechten

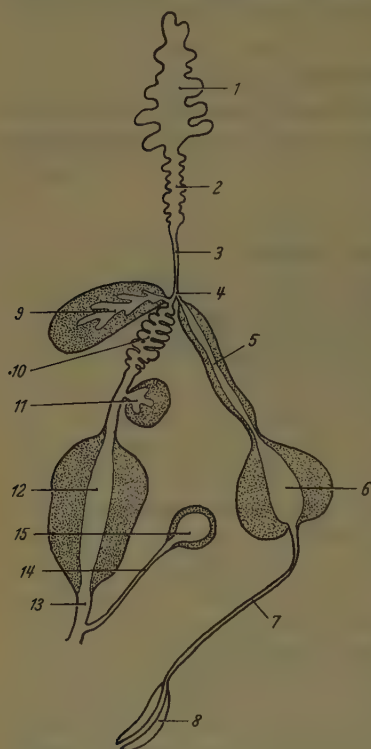


Abb. 2. Schema des Genitaltraktes der *Lymnaea stagnalis* (Bezeichnungen nach BRETSCHNEIDER 1948b). 1 Ovariotestis, Zwitterdrüse; 2 Pars vesicularis, 3 Pars recta des Spermoviducts (Zwittergang); 4 Bifurcatio spermoviducti; 5 Vas efferens; 6 Glandula prostata; 7 Vas efferens; 8 Penis; 9 Glandula albuminifera, Eiweißdrüse; 10 Pars contorta oviducti, Uterus; 11 Glandula nidamentaria accessoria; 12 Pars nidamentaria oviducti; 13 Pars vaginalis oviducti, Vagina; 14 Ductus receptaculi; 15 Receptaculum seminis.

Körperseite der Schnecken geeignet.

Die Operationsinstrumente bestanden aus einer Pinzettenschere, feinen Pinzetten, Messern und gebogenen, an der Spitze rundgeschmolzenen Glasnadeln. Die Messer wurden aus breitgeschlagenen und geschliffenen Stahlstecknadeln angefertigt. Alle Operationen wurden unter dem Binokular bei 16- oder 32facher Vergrößerung ausgeführt.

Nach der Operation kamen die Tiere sogleich in sehr gut durchlüftetes, abgestandenes Aquariumwasser. Sie erholten sich rasch und krochen 2 Std später wieder umher.

Im einzelnen wurden folgende Operationen vorgenommen:

1. Die Durchschneidung des Vas efferens = Vasektomie. Das Vas efferens verläuft nach seinem Austritt aus der Prostata (s. Schema, Abb. 2) zwischen der weiblichen und der männlichen Genitalöffnung unter der Haut. Es ist am ausgestreckten Tier auf der rechten Körperseite als weißlicher Strang durch die Haut hindurch sichtbar. Bei der Operation wurde die Haut über diesem Strang mit einem feinen Messer geöffnet, das Vas efferens herausgezogen und eine Schleife mit der Schere abgetrennt. Die Enden wurden wieder in die Operationsöffnung zurückgeschoben. Sie schließen sich — wie Sektionen zeigten — sehr rasch und heilen in die Haut ein. Ein Zusammenheilen der Enden kommt nicht vor.

2. Die Durchschneidung des Ductus receptaculi = Ductektomie. Der Ductus receptaculi mündet unmittelbar vor dem weiblichen Genitalporus in die Pars vaginalis oviducti (Abb. 2). Er ist teilweise mit dieser und der Prostata verwachsen.

Zur Operation wurde die Körperwand über dem weiblichen Porus aufgeschnitten. Dann wurde eine zugeschmolzene Kapillare durch den weiblichen Porus in den Gang des Receptaculums eingeführt und dieser so zur Operationsöffnung gehoben. Gegenüber der großlumigen, graugefärbten Vagina hebt sich der muskulöse, längs-

gestreifte und pigmentierte Gang des Receptaculum deutlich ab. Er wurde mit einem Glashaken, der durch die Wunde eingeführt wurde, herausgezogen. Nach dem Herausschneiden eines langen Stückes wurden die Enden des Ganges wieder in die Operationsöffnung hineingeschoben. Bei der Operation muß eine Beschädigung des Oviductes, der Prostata und eines in der Haut verlaufenden Nerven vermieden werden. Eine Regeneration des Ductus erfolgt nicht; die Enden heilen in 1—2 Tagen zu. Falls der Schnitt nicht länger als 1 mm ist, sind die Ausfälle bei der Operation sehr gering; sie betrugen etwa 3—5%.

3. *Die totale Exstirpation des Receptaculum.* Der Ductus receptaculi verläuft von der rechten Körperseite zur linken und endet im Receptaculum seminis, das unmittelbar neben dem Herzen unter dem Mantelepithel liegt. Die Operation wurde von der linken Körperseite her ausgeführt. Mit einer abgeflachten und gebogenen Pinzette wurde das Mantelepithel unter der Schale hervorgezogen und über dem Receptaculum aufgeschnitten. Dann wurde das Receptaculum mit einer gebogenen stumpfen Glasnadel herausgezogen und der Ductus receptaculi mit der Schere durchschnitten. Das mit dem Herzbeutel verwachsene Receptaculum wurde danach sehr vorsichtig mit einem stumpfen Glashaken gelöst und entfernt.

Die Ausfälle bei dieser Operation waren im Gegensatz zu allen anderen Eingriffen außerordentlich hoch. Sie betrugen 92%. Ursache hierfür ist wohl die große Nähe des Herzens, verbunden mit der Gefahr einer leichten bakteriellen Infektion. Unter Anwendung massiver Penicillin- und Streptomycindosen, die dem Wasser zugesetzt wurden, gelang es, insgesamt 5 Tiere durchzubringen. Zwei Schnecken wurden einige Monate nach der Operation seziert; ihre Receptacula waren nicht regeneriert.

4. *Die Durchschneidung des Spermooviductes.* Bei dieser Operation wurde die Schale über der Bifurcatio spermooviducti (s. Abb. 2) am proximalen Ende der gelb durch die Schale scheinenden Eiweißdrüse (Glandula albuminifera) geöffnet und das Epithel aufgeschnitten. Bei starker Binocularvergrößerung wurde die Eiweißdrüse umgeklappt und der dünne Spermooviduct mit einem feinen Glashaken durchgerissen. Das Schalenloch wurde mit einer Paraffinscheibe verschlossen, deren Ränder mit einem angewärmten Spatel auf die vorher abgetrocknete Schale aufgeschmolzen wurden. Bei weiterem Wachstum bildeten die Tiere unter dem Paraffin eine neue kräftige Schale.

Die Ausfälle bei dieser Operation sind begrenzt, sofern eine Verletzung der Eiweißdrüse und des Uterus (Pars contorta oviducti) vermieden wird. Eine Regeneration der durchtrennten Verbindung unterbleibt.

Auf die bei der Papierchromatographie angewandten Methoden wird erst im Zusammenhang mit der betreffenden Untersuchung eingegangen werden.

C. Begattung und Eiablage.

I. Die Begattung und die Speicherung des Spermas.

1. Die Übertragung des Spermas bei der Kopulation.

Bei allen Basommatophoren wird das Sperma frei, d.h. nicht in einer Spermatophore eingeschlossen, übertragen. Kurze Zeit nach der Kopulation ist das Receptaculum des begatteten Tieres mit Spermatozoen gefüllt. Über den Mechanismus dieses Vorganges bestehen bei *Lymnaea* noch einige Unklarheiten¹. Nach den Untersuchungen von HOLM

¹ Bei *Lymnaea palustris* fand PREVOST (1833), daß das Sperma bald in den Oviduct, bald in das Receptaculum abgegeben wird.

(1946) ist das Epithel des Ductus receptaculi bei *Lymnaea stagnalis appressa* unbegeißelt. Nach seiner Auffassung müssen daher die Spermien entweder aktiv in das Receptaculum einwandern, oder aber passiv von dem Vas efferens des „Männchens“ während der Kopulation hinein-gepumpt werden.

Es erschien deshalb notwendig, den Vorgang der Spermaübertragung genauer zu verfolgen, da er die Grundlage für eine Lösung der oben gekennzeichneten Probleme darstellt.

Die Sektion eines „Männchens“ während der Kopulation vor der Spermaabgabe zeigt die Spermatozoen in der Prostata und im Vas efferens. Sie bilden einen langen Strang, der von einer wäßrigen Flüssigkeit umgeben ist. Infolge der lebhaften Pulsierung des Vas efferens wird dieser Spermienstrang in dem Sekret hin und her bewegt.

Während der durchschnittlich 30 min dauernden Kopulation wird das Sperma in die Pars vaginalis oviducti des begatteten Tieres übertragen. Dabei kommt es — wie Sektionen zeigten — zu einer Sonderung der einzelnen Spermakomponenten. Als erste Fraktion werden die Spermatozoen in den distalen Teil der Vagina abgegeben. Dann folgt zum Genitalporus hin wäßriges Prostatasekret, das noch sehr viele Spermien enthält. Den Abschluß bildet ein fast spermienfreies, gerinnungsfähiges Sekret der Prostata, das sich auch in den Anfangsteil des Ductus receptaculi hinein erstreckt. Es verschließt als Koagulum die Vagina sowie den Gang des Receptaculums und verhindert somit den Ausfluß des Spermas. In der Vagina und im Ductus receptaculi ereignen sich zu dieser Zeit nur selten pendelartige Kontraktionen. Sie beginnen im distalen Teil der Vagina und laufen in den Ductus receptaculi über.

2. Weg und Schicksal des Kopulationsspermas.

Nach HOLM (1946) und BRETSCHNEIDER (1948a) verläuft bei *Lymnaea stagnalis* eine mit Flimmerepithel ausgekleidete Rinne durch die gesamte Länge des Oviducts bis in den Zwittergang hinein. Wird nun unmittelbar nach einer Begattung die Pars vaginalis oviducti unter leichtem Deckglasdruck mikroskopisch untersucht, so kann man durch die Wand der Vagina diese Flimmerrinne beobachten. In ihr werden Spermien und Sekretkugeln in breitem, trägem Strom den Oviduct hinaufbefördert. Die Spermatozoen schwimmen dabei zum Teil aktiv, vereinzelt auch gegen den ovarwärts gerichteten Cilienschlag, großenteils werden sie jedoch passiv durch die mit großer Kraft schlagenden Cilien hochgeschleppt. Gegenüber dieser Aktivität des Flimmerepithels ist die Eigenbewegung der Spermatozoen von geringer Bedeutung. Der Gang des Receptaculums und dieses selbst sind zu dieser Zeit noch spermafri. Diese Verhältnisse dauern nach einer Begattung 1—2 Std an.

Eine Sektion etwa 3 Std nach der Kopulation zeigt die nächste Phase. Das Tier wurde nach der Präparation unter einer isotonischen

(0,2%) Kochsalzlösung beobachtet. Das Sperma befindet sich nunmehr im Gang des Receptaculums und hat zum Teil schon Eingang in dieses selbst gefunden.

Etwa alle 30—45 sec verläuft eine Kontraktionswelle von der Pars nidamentaria oviducti ausgehend die Vagina hinab. Jede zweite Welle pflanzt sich gewöhnlich in den Ductus receptaculi fort und verläuft in Richtung auf das Receptaculum etwa bis zur Mitte des Ganges stärker, dann schwächer weiter. An geeigneten Stellen des Ductus kann man im Innern einen Transport des Spermas wahrnehmen. Niemals konnten Spontankontraktionen des Ganges, noch vom Receptaculum weglauende Kontraktionswellen beobachtet werden. Die Spermatozoen aus Oviduct, Receptaculumgang und Receptaculum selbst sind zu dieser Zeit lebhaft beweglich.

Fünf Stunden nach einer Kopulation sind Pars vaginalis und Ductus receptaculi praktisch spermienfrei. Das Sperma ist bis auf den geringen, in der Flimmerrinne ovarwärts beförderten Anteil durch die Peristaltik von Vagina und Ductus in das Receptaculum überführt worden. Dort sind die Spermatozoen zum Teil noch lebhaft, größtenteils jedoch nur noch schwach beweglich. Die Beweglichkeit nimmt ständig ab. So war bei einem Tier, das 7 Std nach der Begattung sezirt worden war, von der beträchtlichen Spermienzahl, die sich im Receptaculum befand, nur noch eine Gruppe von etwa 100 Spermatozoen schwach beweglich. Die unbeweglichen Spermien haben dabei ein völlig unverändertes Aussehen und können trotz Verdünnung des Receptaculuminhaltes mit physiologischer Kochsalzlösung nicht mehr beweglich gemacht werden. Diese schnelle Lähmung der Spermien muß durch das Receptaculumsekret verursacht werden, denn in der Prostata eingeschlossene Spermatozoen verlieren auch nach 12stündigem Aufenthalt in dem Sekret dieses Organs nicht ihre Beweglichkeit.

Zwei Tage nach der Kopulation beginnt im Receptaculum eine fortschreitende Zersetzung der Spermiengeißeln. Diese zeigen schon bei Lebendbeobachtung ein verwaschenes Aussehen. Im histologischen Präparat färben sie sich mit der Azanfärbung nicht mehr so intensiv rot wie früher. Die Köpfe verlieren ihre Verbindung mit der Geißel und runden sich ab. Sechs Tage nach der Begattung sind die Spermienchwänze im Receptaculum im allgemeinen stark, stellenweise sogar völlig zersetzt. Diese Massen färben sich nunmehr blau. Sie enthalten Spermienköpfe, die schwach gefärbt, stark verkleinert und kommaförmig sind.

Eine zufällige Beobachtung vermittelte eine Vorstellung von der Größe des in den Spermooviduct eindringenden Anteils des Kopulations-spermas. Bei einer Schnecke, die einige Wochen zuvor begattet worden

war, kommunizierte der Ovariostestis nicht mit der Pars vesicularis des Spermoviductes. Die gesamte Spermienmenge dieses Tieres mußte also in der Zwitterdrüse bleiben. Alle Spermien, die im Spermoviduct zu finden waren, stammten demnach vom Kopulationspartner.

In dem engen Lumen des Zwitterganges dieses Tieres befanden sich im Vergleich zu der bei einer Kopulation übertragenen Spermienzahl sehr wenige Spermatozoen. Ihre Zahl dürfte wohl einige Tausend betragen haben. Sie hatten eine vollkommen normale Kopfform bei unversehrter Geißel. Das Tier war an den Folgen einer Operation eingegangen und vor der Sektion schon einige Stunden tot. Sämtliche Spermien einschließlich derjenigen im Ovariostestis waren unbeweglich. Es kann deshalb über die Bewegungsfähigkeit der im Spermoviduct vorhandenen Spermatozoen nichts ausgesagt werden.

Das Receptaculum dieses Tieres war demgegenüber mit degenerierten Spermien gefüllt, die fadenförmige Köpfe hatten. Auch in der Pars contorta des Oviductes waren einige von ihnen zu sehen. Der Spermoviduct war hingegen von derartigen Spermatozoen frei. Es dürfte demnach bei diesem Tier nicht zu einer Spermaeinwanderung aus dem Receptaculum gekommen sein.

3. Die Bedeutung der Befunde für die Besamung der Eier.

Nach DE LARAMBARGUE (1939) und BRETSCHNEIDER (1948a) werden die Eier der *Lymnaea stagnalis* von begeißelten Spermien besamt. Dies geschieht nach BRETSCHNEIDER im Spermoviduct. Da jedoch — wie die Untersuchungen zeigten — die Geißeln der bei einer Begattung in das Receptaculum gelangten Spermatozoen nach mehrtägigem Aufenthalt in demselben aufgelöst werden, so können jene Spermien zumindest von diesem Zeitpunkt ab nicht mehr für eine Besamung in Frage kommen. Nun beobachtete aber BRETSCHNEIDER, daß im Ductus receptaculi nach einer Kopulation wiederholt durch orangegelbes Receptaculumsekret gefärbte Spermapakete auftreten, die danach in die Vagina und weiter in die Flimmerrinne des Oviductes gelangen. Nach seiner Auffassung werden auf diese Weise die später die Eier besamenden Spermatozoen in den Spermoviduct befördert. Leider werden keinerlei Angaben über die zwischen der Kopulation und jenem Spermatransport herrschenden zeitlichen Beziehungen gemacht. Ich selbst beobachtete nur einmal ein derartiges Spermapaket im Oviduct, und zwar 4 Tage nach der Kopulation; zu einer Zeit also, da die Spermiengeißeln zum großen Teil schon weitgehend zersetzt waren. Wenn auch auf diese Weise wohl keine funktionsfähigen Spermien in den Spermoviduct gebracht werden können, so darf doch die Möglichkeit einer Beeinflussung der Spermatozoen des Zwitterganges durch das hineingelangende Receptaculumsekret nicht übersehen werden.

Es liegt näher, die besamenden Fremdspermien unter denjenigen zu suchen, die sofort nach der Kopulation und wohl auch schon gegen Ende derselben zum Spermoviduct aufsteigen. Diese Auffassung vertritt auch DE LARAMBERGUE auf Grund seiner Untersuchungen an *Bulimus contortus*.

Wir können demnach bereits eine — allerdings negative — Aussage über die Bedeutung des Receptaculum machen. Das Receptaculum seminis der *Lymnaea stagnalis* dient nicht einer Speicherung der bei einer Begattung übernommenen Spermien für spätere Besamungen eigener Eier, sondern in ihm erfolgt im Gegenteil eine Spermatolyse aller eingedrungenen Spermatozoen. Das Receptaculum ist daher im strengen Sinne des Wortes kein Receptaculum seminis. Der eigentliche Ort einer Spermaspeicherung ist der Spermoviduct.

II. Die Beziehungen zwischen Begattung und Eiablage.

1. Prüfung dieser Beziehungen bei *Lymnaea stagnalis*.

Wie bereits eingangs erwähnt, stellten BOYCOTT und Mitarbeiter (1930) an *Lymnaea (Radix) peregra* fest, daß bis zur Begattung isolierte Tiere früher Eier legten als unbegattete Schnecken. Da darüber hinaus keine weiteren, besonders die Zeiten betreffenden Angaben gemacht wurden und überdies bei *Lymnaea stagnalis* andere Bedingungen herrschen konnten, war eine Untersuchung dieses Sachverhaltes notwendig.

Das Untersuchungsmaterial bestand aus 32 gleichaltrigen Schnecken. Im Alter von etwa 6 Wochen wurden 23 Tiere bei einer Schalenlänge von 11—13 mm isoliert. Sektionen an Geschwistertieren zeigten, daß die Spermoviducte zu dieser Zeit noch keine reifen Spermatozoen enthielten. Neun weitere Tiere wurden als Kontrollen zusammengehalten.

Von den isolierten Schnecken wurden 11 vasektomiert, um ihnen die Möglichkeit einer fertilen Selbstbegattung zu nehmen. Diese Tiere waren zur Zeit der Operation 16—20 mm lang und etwa 70 Tage alt. Drei weitere, an der Operation eingegangene Schnecken zeigten kleine, stets spermienfreie Receptacula. Es kann daher angenommen werden, daß auch bei den übrigen isolierten Tieren noch keine Selbstbegattung stattgefunden hatte.

Bei den 9 gemeinsam gehaltenen Schnecken wurden vom 78. Lebenstag an Kopulationen beobachtet. Am 88. Tage fanden sich 2 Eimassen in ihrem Aquarium. Daraufhin wurden 3 vasektomierte Tiere mit nicht-operierten Isolierten zusammengesetzt, bis sie von diesen begattet wurden. Diese 3 nach der Begattung sogleich wieder isolierten Schnecken legten am 5., 6. bzw. 7. Tag nach der Kopulation — also im Alter von 92—95 Tagen — ihre erste Eimasse ab. Demgegenüber legten 19 unbegattete, vasektomierte wie nichtoperierte, isolierte Schnecken erst vom 99. Lebenstag an Eier. Die Abb. 3 gibt für diese insgesamt 21 isolierten

Tiere den Zeitpunkt der ersten Eiablage an. Ferner ist aus der Abb. 3 zu ersehen, daß der Beginn der Eiablage von der Schalenlänge unabhängig ist. Zwei weitere isolierte Tiere legten keine Eier ab. Sie wurden im Alter von 143 bzw. 153 Tagen seziiert und der Zustand ihrer Genitalorgane untersucht. Es wurden keinerlei Anhaltspunkte zur Erklärung ihrer Sterilität gefunden.

Auffällig ist, daß zwischen Kopulation und Eiablage stets einige Tage verstreichen. Tabelle 1 zeigt dies für 30 begattete Tiere, die gegenüber unbegatteten Kontrolltieren früher Eier legten.

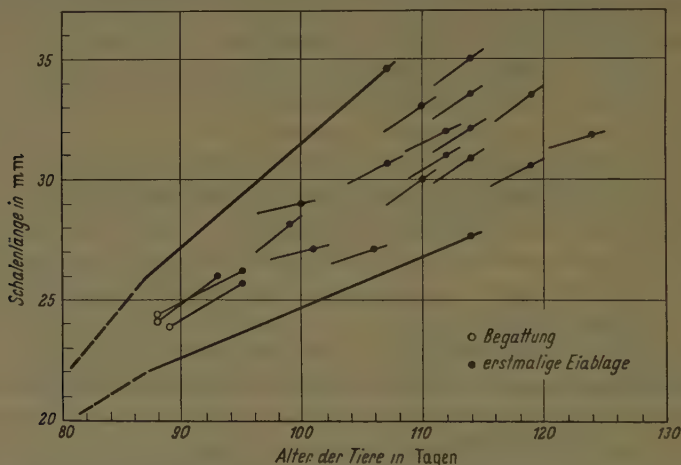


Abb. 3. Beginn der Legetätigkeit von 21 isolierten gleichaltrigen Schnecken. Auf der Ordinate ist die Schalenlänge, auf der Abszisse das Alter der Tiere nach dem Schlüpfen aufgetragen. Jeder Punkt entspricht der ersten Eiablage einer Schnecke. Jeder Kreis gibt den Zeitpunkt einer Begattung an. Dem gleichen Tier zugehörige Zeichen sind miteinander verbunden. Für 2 Schnecken ist der Verlauf des Längenwachstums der Schale eingezeichnet. Bei den anderen Tieren wurde die Neigung der Wachstumskurve zur Zeit der ersten Eiablage angedeutet.

Tabelle 1. Beginn der Legetätigkeit begatteter Schnecken.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Tage nach Begattung											
Anzahl der eierlegenden Schnecken	—	1	1	—	4	3	4	8	3	3	3	—

Das Maximum der erstmaligen Eiablage findet sich am 8. Tag nach einer Begattung. Voraussetzung ist jedoch, daß die Tiere etwa 80 Tage alt sind; denn erst von dieser Zeit an sind die Eier ausgereift (BRETSCHNEIDER und RAVEN 1951). Bei Schnecken, die lange vor diesem Alter begattet wurden, kann daher ein größerer Zeitraum zwischen Kopulation und erster Eiablage verstreichen (vgl. Abb. 6).

Aus den später noch zu erläuternden Abb. 4–6 ist ebenfalls zu erkennen, daß begattete Schnecken früher als unbegattete Tiere Eier

legen. Demnach führt die Begattung auch bei *Lymnaea stagnalis* zu einem beschleunigten Einsetzen der Legetätigkeit.

2. Die Analyse der durch eine Begattung gegebenen Faktoren.

Nach den Untersuchungen von BRETSCHNEIDER (1948b) kommt es bei *Lymnaea stagnalis* erst unmittelbar vor einer Eiablage zur Ovulation. Die etwa 40—120 Eier einer Eimasse ovulieren also gleichzeitig. Die bei begatteten Tieren früher einsetzende Legetätigkeit ist demnach auf

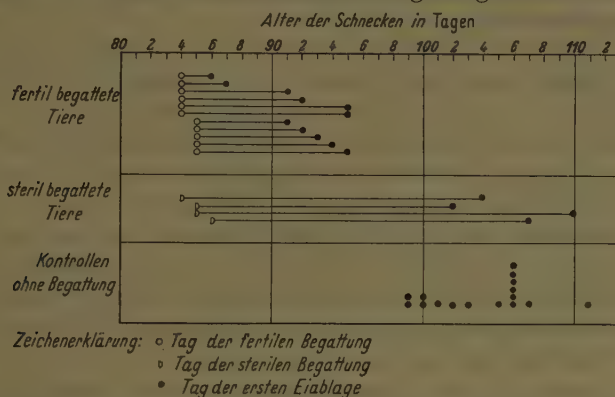


Abb. 4. Zur Frage der Auslösung der Eiablage durch den Begattungsreiz. Sämtliche Tiere sind gleichaltrige Geschwister. Die fortlaufenden Ziffern am Kopf der Abbildung geben das Alter dieser Schnecken in Tagen an. Jeder Vollkreis entspricht einer normalen Begattung, jeder Halbkreis einer Begattung durch ein vasktomisiertes Tier. Jeder Punkt gibt den Beginn der Legetätigkeit einer Schnecke an. Für das gleiche Tier geltende Zeichen sind miteinander verbunden.

die Fähigkeit ihrer Ovocyten, früher als bei unbegatteten Schnecken zu ovulieren, zurückzuführen.

Der mehrtägige Zeitraum zwischen Kopulation und Eiablage läßt vermuten, daß die Begattung nicht unmittelbar die Ovulation bewirkt. Sie löst vermutlich eher einen Kettenprozeß aus, dessen letztes Glied eben die Ovulation ist.

Bei der Frage nach dem ersten Glied dieser Kette haben wir unter Berücksichtigung des Kopulationsvorganges folgende Möglichkeiten ins Auge zu fassen:

1. Den im Verlaufe der Begattung gegebenen Nervenreiz.
2. Die unmittelbar nach der Kopulation in Spermoviduct und vielleicht auch in den Ovariotestis eindringenden Fremdspermien und Prostatasekrete.
3. Das nach der Begattung passiv in das Receptaculum seminis gelangende Kopulationssperma.
4. Den möglicherweise einige Zeit nach der Begattung zum Spermoviduct beförderten Inhalt des Receptaculums.

Zur Klärung dieser Fragen wurden gleichalte, durch Selbstbefruchtung entstandene Schnecken verwendet, die vom gleichen Elterntier stammten. Damit wurde eine höchstmögliche Einheitlichkeit des Untersuchungsmaterials erreicht. Bis zu einem Alter von 5—6 Wochen und einer Schalenlänge von 10—14 mm wurden die Tiere gemeinsam gehalten und danach in strenger Isolierung weitergezogen. Unter den günstigen Bedingungen des Sommers wuchsen sie sehr rasch heran und hatten etwa 5 Wochen nach der Isolierung eine Schalenlänge von 30 mm häufig schon überschritten.

1. *Untersuchung zur Frage der Bedeutung des Begattungsreizes für die Ovulation.* Hierbei wurden 4 Schnecken von vasektomierten Tieren begattet. Damit ist zwar der Begattungsreiz gegeben, denn diese sterilen Kopulationen haben den Verlauf einer normalen Kopulation, es kommt aber nicht zu einer Spermaübertragung. Als Kontrollen wurden zur gleichen Zeit 11 Tiere normal begattet, während 16 Tiere unbegattet blieben. Die Ergebnisse dieser Serie sind in der Abb. 4 zusammengestellt.

Während die fertil begatteten Schnecken einen deutlichen Zusammenhang zwischen Kopulation und erster Eiablage erkennen lassen, bleibt dieser bei steriler Begattung aus. Die steril begatteten Schnecken legen gleichzeitig mit den unbegatteten Kontrolltieren Eier. Somit kann geschlossen werden, daß der Begattungsreiz in keiner Weise ovulationsauslösend wirkt. Die Beschleunigung der Ovulation muß demnach von dem bei der Kopulation übertragenen Sperma veranlaßt werden.

2. *Zur Frage der Ovulationsauslösung durch in den Spermoviduct eindringendes Kopulationssperma.* Die Untersuchung des Kopulationsvorganges ergab, daß das bei einer Begattung übertragene Sperma die Möglichkeit hat, sowohl zum Spermoviduct als auch zum Receptaculum vorzudringen. Um nun die Wirkung des in den Zwittergang gelangten Fremdspermas auf die Ovulation gesondert untersuchen zu können, wurde bei einer Anzahl Schnecken ein Stück des Ductus receptaculi herausgeschnitten. Werden diese ductektomierten Tiere begattet, so kann das Kopulationssperma nicht mehr ins Receptaculum, wohl aber noch in den Spermoviduct gelangen. Das Sperma wird nach der Begattung nicht aus der Genitalöffnung ausgestoßen. Wie später ausgeführte Sektionen ergaben, wird ein Teil des Spermas in dem an der Vagina hängenden Ende des Ductus receptaculi gespeichert. Es zeigte gegenüber den sonst in das Receptaculum eindringenden Spermien keine Zersetzung der Geißeln.

In Abb. 5 sind die Ergebnisse dieser Serie dargestellt. Bei den nach Ductektomie begatteten Schnecken fehlt ein Zusammenhang zwischen Kopulation und Eiablage. Erst 17 Tage nach der Begattung legte das erste von diesen 5 Tieren erstmalig Eier. Demgegenüber setzte die Legetätigkeit bei allen nichtoperierten, begatteten Schnecken innerhalb

von 11 Tagen nach der Begattung ein. Unter diesen Tieren befanden sich übrigens zwei, denen vor der Begattung nach Narkose der Hautmuskelschlauch aufgeschnitten, das Receptaculum jedoch nicht abgetrennt wurde. Sie legten am 5. bzw. 8. Tag nach der Kopulation Eier ab. Dies beweist, daß das bei den Ductektomierten beobachtete Ausbleiben der Ovulation nach einer Begattung keine Folge einer operativ bedingten allgemeinen Schädigung der Tiere ist.

Trotz Begattung laichten die 5 ductektomierten Schnecken im gleichen Zeitbereich wie die unbegatteten (ductektomierten wie nicht-

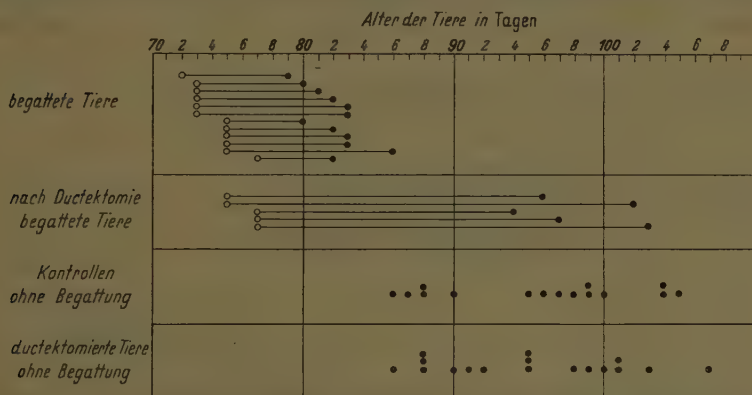


Abb. 5. Zur Frage der Ovulationsauslösung durch die in den Spermoviduct eindringenden Kopulationsspermien. Sämtliche Tiere sind gleichaltrige Geschwister. Am Kopf der Abbildung ist das Alter dieser Schnecken in Tagen angegeben. Ein Kreis entspricht einer Begattung, ein Punkt dem Beginn der Legetätigkeit. Für das gleiche Tier geltende Zeichen sind miteinander verbunden.

operierten) Kontrolltiere. Daher muß geschlossen werden, daß die Ovulation nicht von den nach einer Kopulation in den Spermoviduct und vielleicht auch in den Ovariotestis eindringenden Spermatozoen und Prostatasekreten induziert wird.

Es bleiben demnach nur noch 2 Möglichkeiten für die Auslösung der Ovulation übrig. Bei beiden spielt das Receptaculum eine entscheidende Rolle; sie können daher gemeinsam behandelt werden.

3. *Die Bedeutung des Receptaculums für die durch eine Begattung ausgelöste Ovulation.* Fünf Stunden nach der Begattung ist das Receptaculum mit dem Kopulationssperma gefüllt. Werden begattete Schnecken nach diesem Zeitpunkt ductektomiert, so kann dieses Sperma nicht mehr in den Oviduct und damit auch nicht in den Zwittergang gelangen. Zugleich kann mit Hilfe dieser Operation die Bedeutung des mit dem Kopulationssperma gefüllten Receptaculums für die Ovulation untersucht werden. Abb. 6 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungsserie. Der große, auch bei den nichtoperierten Kontrolltieren festzustellende

Zeitraum zwischen Kopulation und Ovulation ist wohl durch die physiologische Unreife der Schnecken zur Ovulation zu erklären. Die Tiere sind mit einem Alter von 60 Tagen zwar zur Kopulation, aber nicht zur Eiablage fähig. Bemerkenswert ist, daß die Eiablage der begatteten Schnecken allgemein um den 80. Lebenstag herum erfolgt. Offenbar ist der die Ovulation auslösende Faktor die ganze Zeit über vorhanden, die Eier sprechen aber auf ihn erst an, wenn sie ovulationsreif sind.

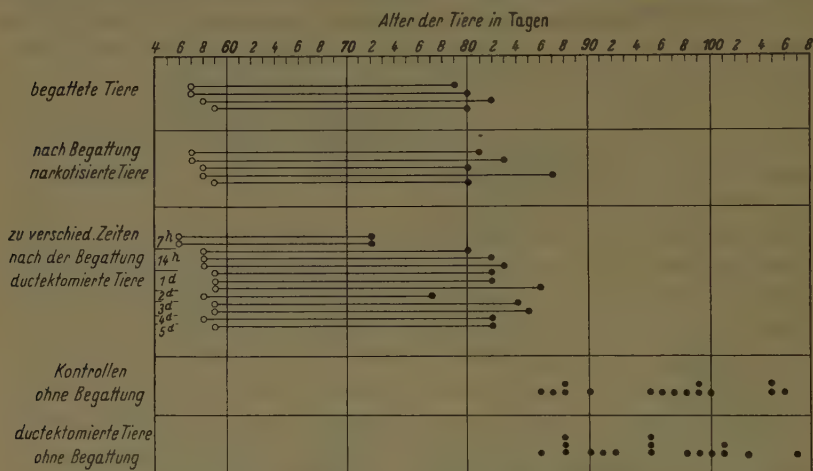


Abb. 6. Die Bedeutung des Receptaculums für die Ovulationsauslösung nach einer Begattung. Sämtliche Tiere sind gleichaltrige Geschwister. Am Kopf der Abbildung ist das Alter dieser Schnecken in Tagen angegeben. Ein Kreis entspricht einer Begattung, ein Punkt dem Beginn der Legetätigkeit. Für das gleiche Tier geltende Zeichen sind miteinander verbunden. Die in der 3. Spalte vor den Kreisen stehenden Ziffern und Zeichen geben die Zeit in Stunden (h) oder Tagen (d) an, die zwischen der Begattung und der nachfolgenden Ductektomie verstrichen.

Aus der Abb. 6 ergibt sich, daß zwischen den normalen begatteten und den nach einer Begattung ductektomierten Schnecken in bezug auf den Zeitpunkt der Ovulation keinerlei Unterschied besteht. Beide Gruppen legen ihre Eier erstmalig zwischen dem 72. und 87. Lebenstag ab, während die unbegatteten Kontrollen — mögen sie nun operiert sein oder nicht — erst vom 86. Lebenstag an mit der Legetätigkeit beginnen.

Würde nun die Ovulation vom Zwittergang aus durch dasjenige Sperma induziert werden, das im Receptaculum umgewandelt und über den Oviduct in den Zwittergang gelangt wäre, so müßte in Spalte 3 der Abb. 6 an der Stelle, an welcher ein derartiger Spermatransport frühest möglich wäre, eine Umkehr der Verhältnisse erfolgen. Diejenigen Tiere nämlich, die vor diesem Zeitpunkt operiert wurden, dürften keinerlei Verfrühung der Eiablage zeigen, da ja bei ihnen das im Receptaculum umgewandelte Sperma nicht mehr in den Spermoviduct gelangen kann, wohingegen die nach dieser Zeit operierten Schnecken eine Beschleu-

nigung der Ovulation erkennen lassen müßten. Aus Abb. 6 ist nichts zu entnehmen, was für diese Möglichkeit der Ovulationsauslösung sprechen könnte.

Die bei begatteten Schnecken gegenüber unbegatteten Tieren früher einsetzende Legetätigkeit wird daher über das Receptaculum seminis ausgelöst, das mit dem Kopulationssperma gefüllt ist. Diese Beziehung bleibt auch bei denjenigen Tieren erhalten, deren Receptaculum nach Aufnahme des Spermas vom Oviduct getrennt wurde. Es kann daher angenommen werden, daß die verfrühte Ovulation vom Receptaculum aus über den Blutweg induziert wird.

III. Die Fortpflanzung unbegatteter Schnecken.

1. Die Frage nach der Bedeutung des Receptaculum für die besamenden Spermien.

Unbegattete Lymnaeen können spontan Eier legen. Es fragte sich daher, ob diese Legetätigkeit ebenfalls vom Receptaculum aus gesteuert wird.

Hier ist nun zunächst auf die eingangs bereits erwähnte Möglichkeit einer Selbstbegattung der Basommatophoren hinzuweisen. Seit der Beobachtung v. BAERS (1835) an *Lymnaea auricularia* liegen keine weiteren Mitteilungen über Selbstbegattungen vor. Während der Untersuchungen an *Lymnaea stagnalis* konnte ich jedoch einmal eine Selbstbegattung mit normaler Spermaübertragung in die eigene Vagina beobachten. Wenn daher isolierte basommatophore Pulmonaten befruchtete Eier legen können, so ist daraus nicht von vornherein zu schließen, daß diese Tiere unbegattet waren.

Nun fanden aber BOYCOTT und Mitarbeiter (1930) sowie DE LARAMBERGUE (1939) in ihrem Material Individuen, denen von Geburt an das Kopulationsorgan fehlte. Diese Tiere legten in strenger Isolierung befruchtete Eier. Daraus wurde mit Recht gefolgert, daß eine Selbstbegattung nicht Vorbedingung zur Eiablage ist. Die isolierten vasktomierten und daher begattungssterilen Tiere von *Lymnaea stagnalis* legten ebenfalls entwicklungsfähige Eier ab, die 2 Richtungskörper bildeten. Sektionen dieser Tiere zeigten jedoch, daß ihre Receptacula Spermien enthielten. Da die Tiere operiert wurden, bevor sie begattungsfähig waren, muß angenommen werden, daß die Spermatozoen über den Oviduct in das eigene Receptaculum einwandern können. Es kann daher möglicherweise auch für die Objekte BOYCOTTs und DE LARAMBERGUES trotz Isolierung und Verhinderung einer Selbstbegattung nicht geschlossen werden, daß die Receptacula dieser Tiere spermafrem waren. Im Receptaculum könnten die Spermien ebenfalls eine Reifung durchmachen und die Ovulation auslösen.

Die Klärung der Frage, ob die Spermatozoen mit dem Receptaculumsekret in Berührung kommen müssen, um besamungsfähig zu werden, brachte erst die Ductektomie. Aus den Abb. 5 und 6 geht eindeutig hervor, daß ductektomierte Tiere gegenüber nichtoperierten isolierten Kontrollen keine Unterschiede in bezug auf den Zeitpunkt der ersten Eiablage erkennen lassen¹. Sektionen von ductektomierten Schnecken zeigten stets kleine, spermafrie Receptacula. Es muß daher angenommen werden, daß die Spermatozoen der *Lymnaea stagnalis* die Eier befruchten können, ohne im Receptaculum eine Reifung durchmachen zu müssen.

2. Weitere Untersuchungen zur Frage einer Nachreifung der Spermien.

Den endgültigen Beweis dafür, daß die Spermatozoen des Spermooviducts bereits besamungsfähig sind, lieferte die Durchschneidung des Spermooviductes. Die Spermien des Zwitterganges können nach dieser Operation nicht mehr mit den Sekreten der Prostata, des Oviducts und des Receptaculums in Berührung kommen. Bei 2 Tieren gelang diese Operation.

Da bei bereits eierlegenden Schnecken ein Wasserwechsel eine Eiablage auslöst und die beiden operierten Tiere ihrem Alter nach schon Eier legen mußten, wurde bei ihnen 4 Monate nach der Operation zur Auslösung der Ovulation das Wasser erneuert. Eine Stunde später wurden die Schnecken getötet, ihre Spermooviducte fixiert, 8μ dick geschnitten und mit Azan gefärbt.

Der Spermooviduct des einen Tieres enthielt 96 frisch ovulierte Eier. Von ihnen waren 29 monosperm und 3 disperm von begeißelten Spermatozoen besamt. Die übrigen 64 Eizellen konnten nicht eindeutig analysiert werden, da ihr Plasma viele Schollen aufwies, die ebenso wie die Spermienköpfe rotgefärbt waren. In diesem Spermooviduct befanden sich ferner 14 Embryonen; 13 besaßen 10—100 Zellen, einer etwa 250 Zellen. Es ließ sich deutlich ein kleinzelliger Pol mit rötlichem Plasma von einem großzelligen Pol mit bläulichem Plasma unterscheiden. Die Embryonen waren auch sonst regelmäßig geformt. Der Embryo mit etwa 250 Zellen hatte ein Blastocoel. Richtungskörper konnten jedoch in keinem Falle gefunden werden.

Die Spermatozoen des von seiner Verbindung mit der Prostata und dem Oviduct getrennten Zwitterganges können demnach die Eier besamen, ohne auf eine durch jene Organe bedingte Nachreifung angewiesen zu sein. Das Vorkommen von Embryonen spricht ferner dafür, daß die Spermien nicht nur besamungs-, sondern auch befruchtungsfähig sind, denn eine parthenogenetische Entwicklung der Embryonen ist wenig wahrscheinlich.

¹ Die Eier dieser Tiere bildeten 2 Richtungskörper und entwickelten sich normal.

3. Die Bedeutung des Receptaculum für die Ovulation bei unbegatteten Schnecken.

Die Untersuchungen des vorhergehenden Kapitels ließen vermuten, daß die Eiablage nach einer Begattung von dem mit Sperma gefüllten Receptaculum über den Blutweg veranlaßt wird. Bei der Frage nach dem Mechanismus dieses Vorganges sind nun 2 Möglichkeiten zu beachten. Das Receptaculum könnte nämlich einmal ein inkretorisches Organ sein, das durch das aufgenommene Kopulationssperma zur vorzeitigen Bildung eines bei Nichtbegattung später ohnehin entstehenden ovulationsauslösenden Hormons angeregt wird; andererseits könnten aber ovulationsauslösende Spermasubstanzen vom Receptaculum resorbiert werden.

Die Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten brachte erst die totale Exstirpation des Receptaculum. Fünf Tiere überlebten diesen Eingriff und leg-

ten sämtlich nach der Operation ohne Begattung Eier ab. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über den Zeitpunkt der Operation und der Eiablage für diese Schnecken.

Die Eier bildeten normale Richtungskörper aus und furchten sich. Gegenüber den nichtoperierten, unbegatteten Kontrollen der entsprechenden Serien zeigten die Tiere H_{24} , H_{85} und K_{10} keine Verzögerung im Beginn der Legetätigkeit. Für L_7 fehlten die Kontrollen. Bei der Schnecke I_1 platzte während der Operation das Receptaculum. Dabei blieb vermutlich etwas von dem orangefarbenen Sekret dieses Organs im Körper zurück. Die Frage, ob dieses Sekret für die schon etwa 4 Tage nach der Operation erfolgende Eiablage verantwortlich zu machen ist, muß offengelassen werden. Die Receptacula der anderen operierten Tiere enthielten noch kein orangefarbenes Sekret. Die Schnecken H_{24} und K_{10} wurden nach ihrem Tode sezirt. Beiden Tieren fehlte ein Receptaculum.

Nach diesen Untersuchungen ist eine Eiablage auch ohne Receptaculum möglich. Das Receptaculum bildet daher wohl kein ovulationsauslösendes Hormon. Die gegenüber unbegatteten Kontrolltieren früher einsetzende Legetätigkeit begatteter Schnecken kann unter der Annahme erklärt werden, daß von dem mit Sperma gefüllten Receptaculum ein für die Ovulation der Eier notwendiger Faktor vorzeitig geliefert wird. Es muß hierbei unentschieden bleiben, ob dieser Spermafaktor unmittelbar

Tabelle 2. Die Eiablage unbegatteter Schnecken ohne Receptaculum.

Nr. der Tiere	Alter der Tiere in Tagen bei		Differenz zwischen Operation und Eiablage (in Tagen)
	Operation	1. Eiablage	
H_{24}	60	92	32
H_{85}	85	133	48
I_1	82	ca. 86	ca. 4
K_{10}	67	114	47
L_7	78	109	31

auf die Ovocyten wirkt oder ob hier ein inkretorisches Organ dazwischengeschaltet ist, das von diesem Faktor nur zur vorzeitigen Tätigkeit stimuliert wird. Die synchrone Ovulation der Eier einer Eimasse könnte im ersteren Fall durch einen von außen kommenden Anstoß der ovulationsreifen Ovocyten, z.B. durch eine Wassererneuerung, erklärt werden. Im letzteren Fall wäre die Ovulation durch die Ausschüttung eines Ovulationshormons bedingt. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß bereits BAUDELLOT (1863) auf Grund seiner Beobachtungen an *Zonites cellarius* die Vermutung aussprach, daß eine Begattung die Entwicklung der Ovocyten beschleunigt oder die Ovulation genügend reifer Eier auslöst.

D. Die Vorgänge im Receptaculum seminis nach einer Begattung.

I. Die chemische Untersuchung des Receptaculuminhaltes.

1. Methodik.

Die bisherigen Untersuchungen zeigten, daß vermutlich vom Receptaculum resorbierte Spermastoffe die Ovulation veranlassen. Da ferner die Lebendpräparate bereits einen Abbau der Spermatozoen im Receptaculum ergaben, schien es wünschenswert, den Inhalt des Receptaculums chemisch zu analysieren.

Hierbei wurde die Methode der Papierchromatographie angewandt. Bei den Untersuchungen auf niedermolekulare organische Verbindungen wurden die Eiweiße der Sekrete unmittelbar nach der Entnahme aus dem Tier mit 80%igem Alkohol ausgefällt. Nach Abzentrifugieren des Niederschlages wurde die jeweilige Lösung bei 45° C eingedunstet und der Rückstand mit 10%igem Isopropanol oder 30%igem Alkohol aufgenommen und quantitativ auf das Chromatogramm aufgesetzt.

Es wurde aufsteigend auf Schleicher & Schüll-Papier 2043b oder 2045b chromatographiert. Die Chromatogramme wurden im allgemeinen mit 80%igem Phenol entwickelt. Der Nachweis der Aminosäuren erfolgte mit Ninhydrin (CRAMER 1953).

2. Die Untersuchung auf niedermolekulare Eiweißbausteine.

Die Zersetzung der Spermiegeißeln im Receptaculum deutete auf einen Eiweißabbau hin. Daher wurde der Receptaculuminhalt auf Aminosäuren untersucht.

Abb. 7 stellt die Photographie eines derartigen Chromatogrammes dar. Das Material eines jeden Streifens stammt von jeweils 4 Schnecken der gleichen Zuchtserie. Dieses Verfahren war infolge der von einem Tier gelieferten geringen Sekretmenge¹ notwendig. Da sich sämtliche

¹ Etwa 3—4 mm³.

verwendeten Tiere in Alter und Schalengröße glichen und zudem die Extrakte stets quantitativ aufgesetzt wurden, dürfte ein bei dieser Methode entstehender Fehler nicht beträchtlich sein.

Ein Vergleich der Streifen 5 und 6 zeigt, daß 6 Std nach der Begattung eine erhebliche Anzahl ninhydrin-positiver Substanzen in zum Teil beträchtlicher Menge in dem Receptaculum vorkommt, das seit etwa 2 Std das Sperma beherbergt. Diese Substanzen sind — wie die Streifen 7 und 8 zeigen — bis 2 Tage nach der Kopulation ohne wesentliche Änderungen der Konzentrationen nachweisbar. Am 4. Tage nach der Begattung (Streifen 9) kommt es jedoch zu einer zum Teil erheblichen Mengenabnahme. In einem weiteren Chromatogramm wurde der Receptaculuminhalt bis zum 8. Tag nach der Begattung verfolgt. Hier nahmen die Konzentrationen der Aminoverbindungen bereits am 2. Tag nach der Begattung ab und blieben während der 6 folgenden Tage praktisch unverändert gering.

Sechs Stunden nach der Kopulation konnten im Receptaculum mit Hilfe eines 2-dimensionalen Papierchromatogrammes insgesamt 16 ninhydrin-positive Flecke nach-

gewiesen werden. Auf Grund ihrer R_f -Werte und Farben konnten einige von ihnen als Aminosäuren erkannt werden: Alanin, Asparagin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin, ein Leucin, Prolin, Serin, Threonin und Tyrosin. Weiterhin waren vorhanden Methionin und/oder Valin sowie vermutlich Cystein und Lysin.

3. Das Auftreten der Aminosäuren im Receptaculum.

Für das vorliegende Problem bedeutsamer als die qualitative und quantitative Erfassung aller im Receptaculum nach einer Begattung



Abb. 7. Papierchromatogramm zum Nachweis von Aminosäuren im Sperma der *Lymnaea stagnalis*. Die Herkunft der einzelnen Streifen: 1 Sperma aus dem Zwittergang unbegatteter Schnecken; 2 Sperma aus dem Zwittergang von Tieren, die 4 Tage vorher begattet wurden; 3 Sperma, das 5—10 min nach einer Begattung der Vagina entnommen wurde; 4 Receptaculuminhalt (R.I.) ductektomierter Tiere; 5 R.I. unbegatteter Tiere; 6 R.I. 6 Std nach einer Begattung; 7 R.I. 1 Tag nach einer Begattung; 8 R.I. 2 Tage nach einer Begattung; 9 R.I. 4 Tage nach einer Begattung.

auftretenden Aminosäuren sind 2 in Abb. 7 erkennbare Tatsachen, nämlich einmal das plötzliche Auftreten der Aminosäuren und zum anderen ihre Konzentrationsabnahme zwischen dem 2. und 4. Tag nach der Begattung.

Man ist geneigt, bei der Betrachtung des plötzlichen Erscheinens der Aminosäuren einen fermentativen Eiweißabbau anzunehmen. Andererseits könnten die Aminosäuren aber auch von der Prostata des „Männchens“ während der Kopulation oder von Vagina und Receptaculum des begatteten Tieres sezerniert worden sein.

Streifen 3 der Abb. 7 zeigte jedoch bereits, daß die Aminosäuren nicht mit dem Kopulationssperma mitgeliefert werden, denn 10 min nach der Begattung enthält das der Vagina entnommene Sperma nur Spuren von ihnen. Es könnte aber während des mindestens 2 Std dauernden Aufenthaltes des Spermas in Oviduct und Vagina zu einer Bildung von Aminosäuren kommen, was für die zum Zwittergang aufsteigenden Spermatozoen möglicherweise sehr wichtig wäre.

Zur Untersuchung dieser Frage wurde daher ein weiteres Chromatogramm angefertigt (Abb. 8).

Nach $1\frac{1}{2}$ Std konnte erstmalig bei einem von 4 Tieren Sperma im Receptaculum gefunden werden (Streifen 2b). $5\frac{1}{2}$ Std nach der Begattung war bei allen 4 Schnecken praktisch alles Sperma in das Receptaculum überführt.

Aus dem Chromatogramm ergibt sich, daß die Aminosäuren im Receptaculum erst nach dem Eindringen des Spermas in dieses Organ vermehrt werden. Die in den ersten Stunden nach einer Begattung zum Spermoviduct aufsteigenden Spermatozoen kommen demnach nicht mit diesen Aminosäuren in Berührung.

Die Frage, ob es im Receptaculum nach einer Begattung zu einer Sekretion von Aminosäuren oder zu einem fermentativen Abbau von Eiweiß kommt, klärt Abb. 9.

Die Inkubationen mußten allgemein unter Mißachtung des p_H -Wertes durchgeführt werden. Es ist mir nämlich kein Verfahren bekannt geworden, das es gestattet hätte, in etwa 4 mm³ einer zähen, inhomogenen, sehr eiweißreichen und häufig noch gelb gefärbten Flüssigkeit verlässliche p_H -Messungen durchzuführen. Das für Messungen in derartigen Substanzen geeignetste Verfahren, die potentiometrische p_H -Messung, war infolge der geringen Sekretmengen nicht anwendbar. Ein Versuch mit Indikatorpapier (Merck) ergab im Receptaculum einen p_H -Wert von etwa 7. Mit allem Vorbehalt kann daher angenommen werden, daß der Receptaculuminhalt neutral reagiert. Die Sekrete wurden bei der Inkubation in sterilen Quarzröhrchen mit neutralem Wasser höchstens im Verhältnis 1:1 verdünnt. Es ist daher anzunehmen, daß der ursprünglich im Lumen des Receptaculums herrschende p_H -Wert bei diesem Ver-

fahren nicht beträchtlich verändert wurde. Ob und inwieweit allerdings unter natürlichen Bedingungen die Vorgänge im Receptaculum von Änderungen des p_H -Wertes begleitet werden, kann nicht beurteilt werden.

Streifen 1 der Abb. 9 gibt den Ausgangszustand für den Streifen 2 wieder. Eine Vermehrung der Aminosäuren in Streifen 2 gegenüber 1

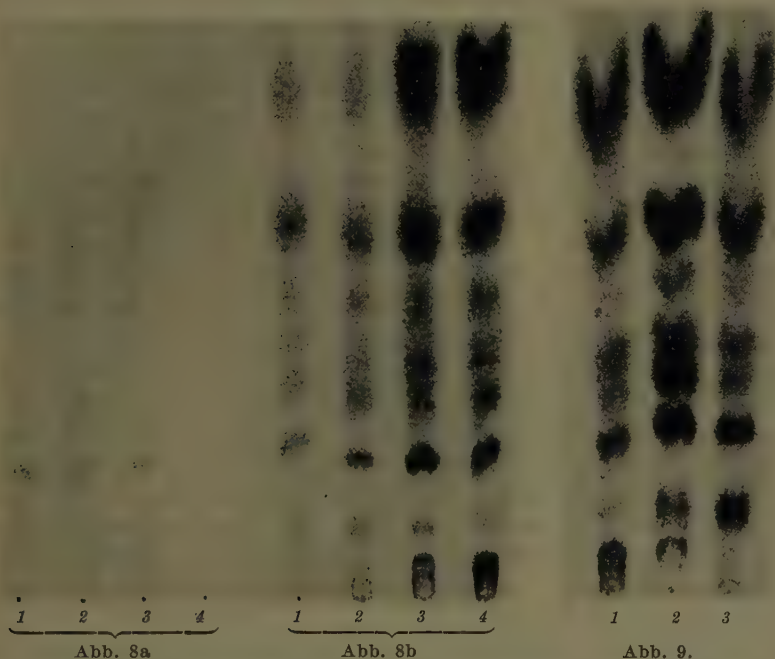


Abb. 8a u. b. Papierchromatogramm zur Bildung der Aminosäuren kurz nach einer Begattung. Jeweils 4 Schnecken wurde zu verschiedenen Zeiten nach einer Begattung das Sperma aus Vagina (a) und Receptaculum (b) entnommen, und zwar: 1 5 min nach der Begattung; 2 1—1½ Std nach der Begattung; 3 3½ Std nach der Begattung; 4 5½ Std nach der Begattung.

Abb. 9. Papierchromatogramm zur Frage der Herkunft der Aminosäuren im Receptaculum. Das Material eines jeden Streifens stammte von jeweils 3 begatteten Schnecken, deren Receptaculuminhalt in folgender Weise behandelt wurde: 1 4—5 Std nach der Begattung entnommen; 2 4—5 Std nach der Begattung entnommen und 20 Std bei 30° C im Wasserbad unter Chloroformzusatz inkubiert; 3 24 Std nach der Begattung entnommen.

muß demnach während der 20stündigen Inkubation bei 30° C stattgefunden haben. Da das zugesetzte Chloroform ein Bakterienleben verhindert (STEINER 1941), muß diese Vermehrung durch fermentativen Eiweißabbau erfolgt sein.

Streifen 2 und 3 sind in bezug auf die Dauer der Fermentwirkung gleich; ein Unterschied bestand jedoch in der dabei herrschenden Temperatur. Diese war in Streifen 2 etwa 10° höher. Die höheren Konzentrationen einzelner Aminosäuren des Streifens 2 gegenüber 3 können

daher nach der VAN'T HOFFschen Regel wohl auf eine Beschleunigung der chemischen Reaktion zurückgeführt werden.

Wie ein weiteres Chromatogramm ergab, führte eine 24stündige, bei 20° C ausgeführte Inkubation eines Spermas, das etwa 1 Std nach der Begattung der Vagina entnommen worden war, zu keiner Vermehrung der Aminosäuren. Demnach enthält das Sperma keine gegen sperma-eigene Eiweiße wirksame Proteinase.

Die nach einer Begattung im Receptaculum auftretenden Aminosäuren werden daher in diesem Organ durch einen fermentativen Eiweißabbau gebildet. Die Proteinase entstammt dabei wahrscheinlich dem Sekret des Receptaculums; das Substrat liefert vermutlich die Prostata des „Männchens“, denn eine Zersetzung der Spermatozoen beginnt erst, nachdem die Konzentrationen der Aminosäuren wieder abnehmen.

4. Das Schwinden der Aminosäuren.

Die Ovulation wird nach einer Begattung vom Receptaculum aus veranlaßt. Es wurde vermutet, daß hierfür Abbauprodukte des Spermas maßgebend sind. In diesem Zusammenhang gewinnt daher das Verschwinden der Aminosäuren aus dem Receptaculum zwischen dem 2. und 4. Tag nach einer Begattung eine besondere Bedeutung. Es fragt sich nunmehr, ob diese Aminosäuren vom Receptaculum resorbiert werden.

Im Fall einer Resorption müßten die Aminosäuren im Blut nachweisbar sein. Es wurde daher das Blut begatteter Schnecken zu verschiedenen Zeiten nach der Kopulation papierchromatographisch untersucht (Abb. 10).

Nur im Bereich des Leucins (R_f -Werte 0,7—0,76; s. Pfeil) zeigte sich in den Streifen 2—4 ein deutliches Auftreten von Aminosäuren gegenüber den Streifen 1 und 5. Diese Befunde könnten für eine bereits 6 Std nach einer Begattung beginnende Resorption von Aminosäuren sprechen, vermögen sie jedoch nicht zu beweisen, denn die innerhalb von 4 Tagen aus dem Receptaculum verschwindende Leucinmenge ist mindestens 30mal größer als die in dieser Zeit im Blut nachweisbare Menge.

Nun ist allerdings eine Resorption schwer direkt nachzuweisen, denn dieser Vorgang verläuft langsam und die Aminosäuren werden schnell von den Geweben dem Blut entzogen. Hier würde ein Verfahren weiterhelfen, das alle Möglichkeiten überprüft, die außer einer Resorption zu einem Verschwinden der Aminosäuren führen könnten. Gelingt es, alle anderen Möglichkeiten bis auf die Resorption auszuschließen, so wäre diese indirekt bewiesen.

Folgende Ursachen könnten zu einer Konzentrationsabnahme der Aminosäuren führen:

1. Eine Massenbewegung des Receptaculuminhaltes in den Oviduct (BRETSCHNEIDER 1948a).

2. Ein Verbrauch der Aminosäuren durch die im Receptaculum nach einer Kopulation massenhaft vorhandenen Bakterien.

3. Eine Zerstörung der Aminosäuren durch vom Receptaculum-epithel gebildete Decarboxylasen oder Desaminasen.

4. Eine Eiweißsynthese im Receptaculumlumen.

5. Eine Resorption der Aminosäuren.

Gegen Punkt 1 spricht, daß das Receptaculum auch dann noch prall mit dem Sperma gefüllt ist, wenn die Aminosäuren bereits weitgehend aus dem Lumen geschwunden sind. Das Verschwinden der Aminosäuren kann also nicht durch einen Abtransport des Spermas erklärt werden. Dies bestätigen auch die Streifen 1 und 2 der Abb. 7. Die Aminosäuren im Spermoviduct der Schnecken, die 4 Tage zuvor begattet worden waren, sind gegenüber den in dem Zwittergang unbegatteter Tiere vorkommenden Mengen nicht vermehrt. In den Receptakeln jener Tiere (Streifen 9, Abb. 7) hat hingegen die Konzentration der Aminosäuren bereits abgenommen.

Das Ergebnis der Prüfung des Punktes 2 ist in Abb. 11 dargestellt. Der Chloroformzusatz in Streifen 2 verhinderte während der Inkubation jegliches Bakterienleben. In dem sonst genauso behandelten Material des Streifens 3 konnten sich die Bakterien dagegen ungehindert vermehren. Eine kleine, am Ende der Inkubation mikroskopisch untersuchte Probe dieses Materials zeigte viele, sehr lebhaft bewegliche Bakterien. Die Spermatozoen waren dagegen unbeweglich, aber unversehrt.

Der Streifen 1 in Abb. 11 stellt den Ausgangszustand für die Streifen 2 und 3 dar. Ein Vergleich letzterer Streifen zeigt, daß in Streifen 3 die Asparaginsäure (Pfeil 1) praktisch völlig fehlt und das Serin (Pfeil 2) wesentlich geringer vertreten ist. Alle anderen Aminosäuren dieses Streifens sind gegenüber 2 eher vermehrt, was vielleicht für eine Beeinträchtigung des enzymatischen Eiweißabbaues durch das Chloroform sprechen könnte. Jedenfalls ergibt sich, daß die Bakterien nur Asparaginsäure und Serin für ihren Stoffwechsel verbrauchen, alle anderen Aminosäuren hingegen nicht beeinträchtigen. Streifen 4 belegt wiederum mit aller Deutlichkeit die starke Abnahme der Aminosäuren 4 Tage nach der Begattung.

Die Abb. 11 zeigt, daß die Aminosäuren während der 3tägigen Inkubation mit Chloroform vermehrt werden; es erfolgt demnach ein weiterer Eiweißabbau und keineswegs eine Zerstörung von Aminosäuren. Da aber bei dieser Untersuchung der Receptaculuminhalt bereits 24 Std nach der Begattung — also vor der Mengenabnahme der Aminosäuren — den Tieren entnommen wurde, bleibt die Möglichkeit weiterhin offen, daß das Receptaculum erst später Fermente sezerniert, die Aminosäuren zerstören können. Der Untersuchung dieser Frage diene das in Abb. 12 dargestellte Chromatogramm.

Vergleicht man die Streifen 2 und 3 mit 1, so zeigt sich, daß die Eiweiße im Receptaculum auch noch am 5. Tag nach der Begattung abgebaut werden. Auch zu dieser Zeit kommt es daher weder zu einer fermentativen Zerstörung von Aminosäuren noch zu einem enzymatischen Aufbau von Eiweiß. Dies verdeutlicht eine vergleichende Be-

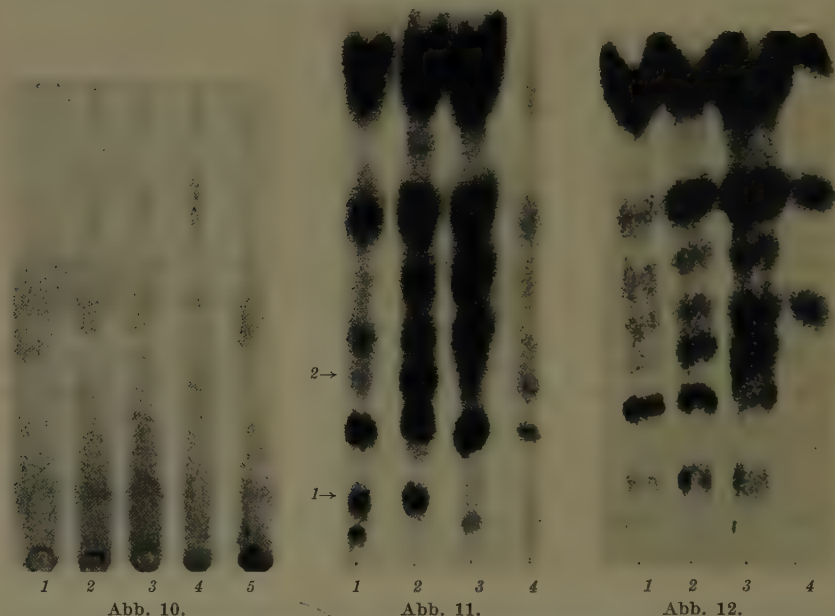


Abb. 10. Papierchromatogramm zum Nachweis von Aminosäuren im Schneckenblut zu verschiedenen Zeiten nach einer Begattung. Für jeden Streifen wurde jeweils 3 Schnecken insgesamt 1 ml Blut entnommen und dieses mit Alkohol enteiweißt. Die Herkunft der einzelnen Streifen: 1 Blut unbegatteter Schnecken; 2 Blut, das 6 Std; 3 1 Tag; 4 2 Tage bzw. 5 4 Tage nach der Begattung den Schnecken entnommen wurde.

Abb. 11. Papierchromatogramm zur Frage der Wirkung der Bakterien auf die Aminosäuren. Das Material eines jeden Streifens stammt von jeweils 3 begatteten Tieren. Die einzelnen Streifen bedeuten: 1 Receptaculuminhalt, 24 Std nach der Begattung entnommen; 2 wie 1, nach der Entnahme jedoch 3 Tage in einem sterilen, verschlossenen Quarzröhrchen mit Chloroformzusatz bei Zimmertemperatur inkubiert; 3 wie 2, jedoch ohne Chloroform inkubiert; 4 Receptaculuminhalt, 4 Tage nach der Begattung entnommen.

Abb. 12. Papierchromatogramm zur Frage der Zerstörung der Aminosäuren durch Fermente des Receptaculums. Für die Streifen 1—3 wurde der Receptaculuminhalt von jeweils 3 Schnecken 5 Tage nach der Begattung entnommen und wie folgt behandelt: 1 Sogleich nach der Entnahme untersucht; 2 nach der Entnahme 30 Std bei Zimmertemperatur und Chloroformzusatz inkubiert; 3 wie 2 behandelt, aber noch mit Zusatz von 5 γ Glycin, 8 γ Alanin und 10 γ Isoleucin inkubiert; 4 Aminosäuren zur Kontrolle: 5 γ Glycin, 8 γ Alanin und 10 γ Isoleucin.

trachtung des Streifens 3 mit 2 und 4; die dem Material dieses Streifens vor der Inkubation zugesetzten Aminosäuren bleiben nämlich während derselben unverändert erhalten.

Somit können 4 von den 5 oben als möglich angeführten Ursachen der Mengenabnahme der Aminosäuren als widerlegt angesehen werden.

Im Verein mit den in Abb. 10 dargestellten Ergebnissen der Blutuntersuchung scheint daher die Resorption der Aminosäuren erwiesen. Ob nun das Receptaculumepithel alle resorbierten Aminosäuren an das Blut abgibt, oder ob ein Teil derselben bereits in den Zellen des Receptaculum zu höheren Verbindungen aufgebaut wird, muß hierbei ungeklärt bleiben. Tatsache ist jedoch, daß das Receptaculum seminis als Resorptionsorgan fungiert.

5. Die Frage nach der Bedeutung der Aminosäuren für die Ovulation.

Die voranstehenden Untersuchungen zeigten, daß die sofort nach einer Begattung im Receptaculum gebildeten Aminosäuren zwischen dem 2. und 4. Tag nach der Kopulation resorbiert werden. Da begattete Schnecken 5 Tage nach der Kopulation mit der Eiablage beginnen (vgl. Tabelle 1, S. 232), fragte es sich, ob die Aminosäuren hierfür verantwortlich zu machen sind.

Zur Prüfung dieser Frage wurde eine wäßrige Lösung folgender Aminosäuren in unbegattete Schnecken injiziert: Alanin, Arginin, Glycin, Histidin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin. Die Gewichtsmenge jeder Komponente betrug je Tier 8 γ . Keines der Tiere legte innerhalb der zu erwartenden Zeit Eier. Demnach kann geschlossen werden, daß die 12 verwendeten Aminosäuren nicht für die Auslösung der Ovulation verantwortlich zu machen sind. Die Frage nach der Bedeutung der Aminosäuren für die Ovulation muß jedoch als ungeklärt betrachtet werden, da nicht sämtliche Aminosäuren geprüft wurden. Andererseits besteht noch die Möglichkeit, daß die Ovulation von resorbierbaren Substanzen ausgelöst wird, die nicht von eiweißartiger Natur sind. Zucker dürften hierbei jedoch keine Rolle spielen, denn papierchromatographisch konnten bis 4 Tage nach der Begattung nur Spuren einer Hexose im Lumen des Receptaculum nachgewiesen werden. Das Vorkommen anderer Verbindungen wurde nicht geprüft.

II. Das histologische Bild des Receptaculumepithels.

Das Receptaculum der Basommatophoren wurde bereits mehrfach untersucht. So fand DE LARAMBERGUE (1939) bei *Bulimus contortus*, daß die Epithelzellen 2—4 Tage nach der Begattung in voller sekretorischer Aktivität sind. Die Spermatozoen verlieren zu dieser Zeit ihre Geißeln. CRABB (1927 a) hält das Receptaculum von *Lymnaea stagnalis appressa* nicht für eine wirkliche Drüse, vermutet aber, daß es eine zähe, gelbe Flüssigkeit sezernieren kann. HOLM (1946) untersuchte das Receptaculum dieser Art genauer und berichtete, daß das Epithel sogleich nach dem Eindringen des Kopulationsspermas ins Receptaculum in eine

Sekretionsphase eintritt. Die Zellen bilden an ihrem distalen Ende klare Bläschen aus, die sich danach abschnüren und öffnen. Darüber hinaus liegen jedoch keine weiteren Angaben vor.

Auch bei *Lymnaea stagnalis* werden die Spermiengeißeln vom 2. Tag an nach der Begattung aufgelöst. Die unmittelbar nach der Begattung im Receptaculum entstehenden Aminosäuren werden zwischen dem 2. und 4. Tag weitgehend resorbiert. Es fragte sich, inwieweit Veränderungen des Epithels diese Vorgänge begleiten. Es wurden daher Receptacula vor und nach einer Begattung nach BOUIN fixiert, 8μ dick geschnitten und mit der Azanfärbung nach HEIDENHAIN gefärbt.



Abb. 13.

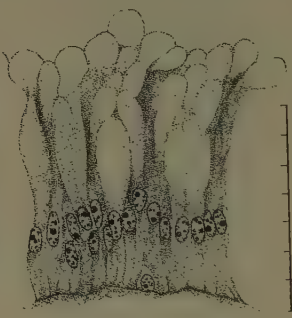


Abb. 14.



Abb. 15.

Abb. 13. Epithelzellen aus dem Receptaculum einer unbegatteten *Lymnaea stagnalis*. Bouin-Fixierung, 8μ Schnitt, Azanfärbung. Eine Teilstrecke des Maßstabes entspricht 10μ .

Abb. 14. Receptaculumepithel 12 Std nach einer Begattung.

Abb. 15. Receptaculumepithel 2 Tage nach einer Begattung.

In Abb. 13 ist das Aussehen des Epithels eines spermafrien Receptaculums dargestellt. Zwischen etwa 50μ hohen, zu Gruppen geordneten Zellen mit rundlichen Kernen und hellem Plasma liegen Gruppen etwa 70μ hoher, apikal kolbenförmig verdickter Zellen mit dichterem Plasma und langgestreckten Kernen. Sie befinden sich offensichtlich in einer Sekretionsbereitschaft. Das Lumen des Receptaculums ist zu dieser Zeit mit einer sich blaßblau färbenden Flüssigkeit gefüllt.

Das nach einer Begattung in das Receptaculum gelangende Sperma löst eine Sekretion aus. Der apikale Zellpol der Epithelzellen bildet kolbenförmige Bläschen, deren Inhalt sich bei der angewandten Methode nicht oder nur ganz schwach blau färbt. Die Abb. 14 zeigt diesen Zustand 12 Std nach einer Begattung. Die Zellen haben nunmehr eine Höhe von $80-90\mu$. Eine Unterscheidung verschiedener Zellgruppen wie in Abb. 13 ist zwar möglich, aber nicht mehr so leicht durchzuführen, denn alle Zellen sezernieren stark. Dieses Stadium der Sekretion kann vereinzelt bis 2 Tage nach einer Begattung beobachtet werden.

In einzelnen Abschnitten des Receptaculums tritt jedoch das Epithel bereits einen Tag nach der Begattung in die nächste Phase der Sekretion

ein. Die Sekretbläschen werden von den Zellen abgeschnürt und lösen sich auf. Dadurch entsteht schließlich ein 20—40 μ breiter farbloser Saum um die im Lumen des Receptaculums liegende intensiv gefärbte Sperma-masse. Etwa 2 Tage nach der Begattung ist dieser Vorgang abgeschlossen. Die wiederum 70 μ hohen Epithelzellen besitzen einen scharf begrenzten apikalen Pol und dichtes Cytoplasma. Die Abb. 15 gibt diese Endphase der Sekretion wieder.

Die Untersuchungen wurden bis 6 $\frac{1}{2}$ Tage nach der Begattung fortgesetzt. Während dieser Zeit lassen sich keine wesentlichen Veränderungen des in Abb. 15 wiedergegebenen Zustandes feststellen. Das Epithel tritt in keine weitere Sekretionsphase ein; es kommt lediglich vereinzelt zur Abstoßung einzelner Drüsenzellen mit pyknotischen Kernen.

In den Abb. 13—15 ist das hohe Epithel in der Nähe der Einmündung des Ductus receptaculi dargestellt. Hier ist die Receptaculumwand stark und kryptenreich. Die Epithelzellen anderer Abschnitte des Receptaculums sind wesentlich kleiner, aber breiter. Die oben geschilderten Vorgänge laufen in ihnen jedoch in gleicher Weise ab.

III. Die Deutung der Befunde.

Eine zusammenschauende Betrachtung der histologischen und chemischen Untersuchungen des Receptaculums gestattet nun folgende Aussagen:

Da die Auflösung der von dem Receptaculumepithel gebildeten Sekretbläschen erst einen Tag nach der Kopulation beginnt, die Aminosäuren aber bereits innerhalb von 5 Std nach einer Begattung erscheinen, so kann das Sekret jener Bläschen nicht für diesen fermentativen Eiweißabbau verantwortlich gemacht werden. Die hier wirkende Proteinase muß vielmehr schon im Lumen des Receptaculums enthalten sein.

Auffallend ist, daß die Zersetzung der Spermiengeißeln 2 Tage nach der Begattung beginnt, zu einer Zeit also, da die Sekretbläschen von den Epithelzellen abgeschnürt werden. Da diese Spermato-lyse nicht erfolgt, wenn das Sperma schon 24 Std nach der Begattung dem Receptaculum entnommen und 4 Tage bei Zimmertemperatur inkubiert wurde (vgl. die Bemerkungen zu Abb. 11), kann diese Geißelzersetzung weder von dem bereits im Receptaculumlumen anwesenden Sekret noch von den massenhaft vorhandenen Bakterien verursacht werden. Es ist daher anzunehmen, daß das von den Drüsenzellen des Receptaculums nach einer Begattung gebildete Sekret spermato-lytisch wirkt.

Nach den papierchromatographischen Untersuchungen werden die nach der Begattung gebildeten Aminosäuren zwar schon geringfügig von der 6. Std nach der Kopulation an (vgl. Streifen 6 und 7 in Abb. 7 sowie Streifen 1 und 2 in Abb. 10) resorbiert, ein sprunghafter Abfall der Konzentrationen findet jedoch erst zwischen dem 2. und 4. Tag

nach der Begattung statt. Nun zeigten die histologischen Untersuchungen, daß die Epithelzellen 2 Tage nach der Begattung ihr Sekret abgegeben haben und wieder eine glatte Außenfläche besitzen. Papierchromatographisch konnte aber eine die Aminosäuren zersetzende Wirkung dieser Sekrete ausgeschlossen (vgl. Abb. 12) und eine Resorption wahrscheinlich gemacht werden. Es ist daher anzunehmen, daß die Epithelzellen nach Abgabe der Sekretblasen in eine aktive Resorptionsphase eintreten. Die Drüsenzellen des Receptaculum der *Lymnaea stagnalis* würden sich demnach wie die zuletzt von THIELE (1953) untersuchten sog. Sekretions-Resorptionszellen der Mitteldarmdrüse der Gastropoden verhalten. Während jedoch die Resorptionsphase dieser Zellen bisher nur postuliert werden mußte, scheint sie nunmehr an Hand der Epithelzellen des Receptaculum direkt nachgewiesen zu sein.

E. Zur Frage der Bevorzugung der Fremdspermien bei der Befruchtung.

I. Über ein genetisch bedingtes Gehäusemerkmal bei *Lymnaea stagnalis*.

Obwohl sich die Pulmonaten als Hermaphroditen vielfach in strenger Isolierung durch Selbstbefruchtung fortpflanzen können, wird bei Kreuzungen das Fremdsperma zur Eibefruchtung bevorzugt (BOYCOTT und Mitarbeiter 1930; IKEDA 1937, DE LARAMBERGUE 1939). Da die bei einer Begattung übertragenen Spermien wohl stets den schon an den Orten der Besamung anwesenden eigenen Spermatozoen zahlenmäßig unterlegen sind, sprechen diese Befunde sehr für eine größere Befruchtungsfähigkeit der Fremdspermien. Die Ursachen derselben sind noch ungeklärt; oftmals wurde hierfür jedoch eine Beeinflussung der Kopulationsspermien durch das Sekret des Receptaculum verantwortlich gemacht. Diese Annahme soll nunmehr an *Lymnaea stagnalis* überprüft werden.

Im Laufe der Zuchten traten trotz gleicher Zuchtbedingungen zwei Serien mit verschiedenen geformten Schalen auf. Bei der einen Serie (G-Serie) war die Schale sehr lang und schmal, bei der anderen (E-Serie) dagegen kürzer, breiter und gestaucht. In Abb. 16 sind Vertreter dieser beiden Formen in natürlicher Größe dargestellt. Bei weiterem Wachstum griff bei den Schnecken der E-Serie die Schalenmündung rückschreitend auf die alten Windungen über, so daß die Gewindehöhe ständig abnahm. Extremformen beider Serien wurden isoliert großgezogen und zur Fortpflanzung gebracht, um die Erbllichkeit dieser Merkmale zu prüfen.

In Abb. 17 ist ein Teil der durch Selbstbefruchtung entstandenen Nachkommen von E₁₁₂ abgebildet. Die etwa 6¹/₂ Monate alten Schalen

wurden (auch bei den später folgenden Abbildungen) nach steigender Gewindehöhe so geordnet, daß eine der Wirklichkeit möglichst entsprechende Vorstellung von der Variationsbreite der Serien vermittelt wird. Am Anfang der oberen und am Ende der unteren Reihe der Abbildungen befinden sich daher die Extremformen einer Serie. Die Abb. 18 gibt einige der ebenfalls durch Selbstbefruchtung entstandenen Nachkommen von G_{12} wieder. Die Schalen stammen wiederum von etwa $6\frac{1}{2}$ Monate alten Tieren.

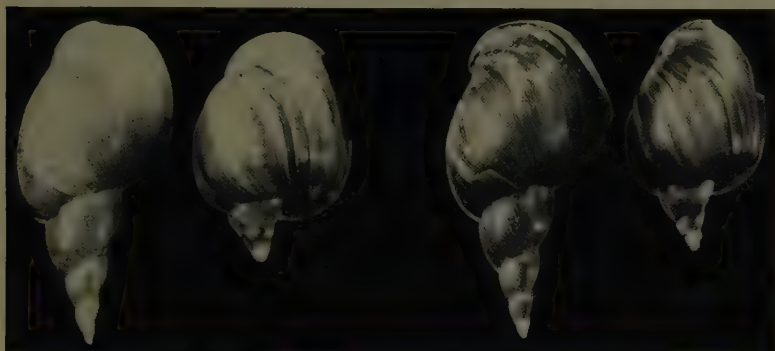


Abb. 16. Die Schalen der langschaligen Schnecken G_2 und G_{12} sowie der kurzschaligen Tiere E_{98} und E_{112} . E_{112} wurde später von G_2 begattet. Bei dieser und allen folgenden Abbildungen sind die Schalen in natürlicher Größe dargestellt.

Ein Vergleich der Abb. 16, 17 und 18 zeigt, daß die Nachkommen nicht die Formen der Elterntiere erreichen. Hier könnten jahreszeitlich bedingte Außenfaktoren eine Rolle spielen. Die Elterntiere wurden nämlich in den Sommermonaten, ihre Nachkommen hingegen den Winter über großgezogen. Möglicherweise können daher Unterschiede in den Temperatur- und Belichtungsverhältnissen bedeutsam sein. Ferner könnte der verfütterte Salat trotz reichlichem Angebot von unterschiedlicher Qualität sein. Da aber die Schlupfzeiten sämtlicher Nachkommen von E_{112} und G_{12} nur wenige Tage auseinanderliegen, können die Außenbedingungen für die Tiere dieser Serien als gleich angesehen werden. Unterschiede zwischen den Serien wären demnach genetisch bedingt.

Von allen Maßen und Indices der Schneckenschalen (vgl. MIEGEL 1932) erwies sich die maximale Gewindehöhe zur Charakterisierung der Formen als am geeignetsten; sie wurde daher den weiteren Betrachtungen zugrunde gelegt. Die Kurven E_{98} , E_{112} und G_{12} der Abb. 19 zeigen eine deutliche Trennung der nach der maximalen Gewindehöhe geordneten Nachkommen dieser Tiere. Während die Maxima der durch Selbstbefruchtung entstandenen Nachkommen der beiden kurzschaligen

Schnecken E_{98} und E_{112} zusammenfallen, liegt das Maximum der Nachkommen von G_{12} außerhalb der Variationsbreite jener Tiere. Zwischen



Abb. 17. Durch Selbstbefruchtung entstandene Nachkommen von E_{112} , 2 Tage vor der Kreuzung dieser Schnecke mit G_2 abgelegt.



Abb. 18. Durch Selbstbefruchtung entstandene Nachkommen der langschaligen Schnecke G_{12} .

der Gewindehöhe 11 und 13 mm kommt es jedoch zu einer Überschneidung der Kurven.

Die Befunde zeigen, daß die zwischen den Schnecken der E- und G-Serie vorliegenden Unterschiede in der Gewindehöhe auf die Nachkommen dieser Tiere bei Selbstbefruchtung übertragen werden. Sie können daher als genetisch bedingt angesehen werden.

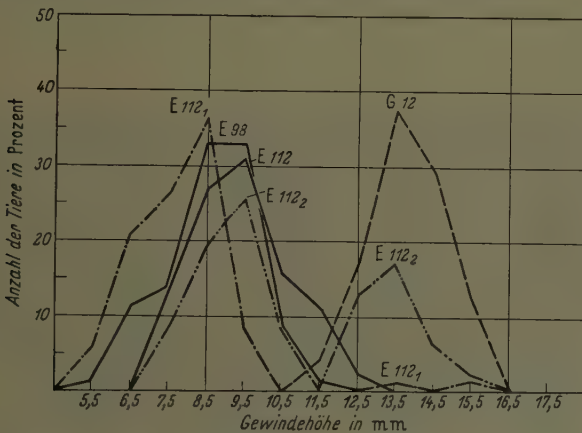


Abb. 19. Die Verteilung der Nachkommen von Schnecken mit kurzem Gewinde (E_{98} , E_{112}) und langem Gewinde (G_{12}). Auf der Abszisse wurde die maximale Gewindehöhe in Millimeter, auf der Ordinate der jeweilige prozentuale Anteil von der Gesamtzahl der aus einer Eimasse geschlüpfen Tiere aufgetragen. Die Kurven E_{98} , E_{112} und G_{12} gelten für die Nachkommen der betreffenden (unbegatteten) Schnecken. Die Kurven $E_{112,1}$ und $E_{112,2}$ bezeichnen die Nachkommen von E_{112} , die nach der Begattung dieser Schnecke durch das langschalige Tier G_2 aus den beiden ersten Eimassen schlüpfen.

II. Die Bedeutung der Fremdspermien bei einkreuzender Begattung.

Unter einer einkreuzenden Begattung wird hier eine Begattung von Schnecken verstanden, die sich bereits durch Selbstbefruchtung vermehren. Es fragte sich, ob die nach dieser Kreuzung abgelegten Nachkommen ein anderes Aussehen haben, als die Nachkommen vor dieser Kreuzung. Daraus würden sich Schlüsse auf die Bedeutung der Fremdspermien bei der Eibefruchtung ziehen lassen.

Einen Tag nach der Eiablage der in Abb. 17 abgebildeten Nachkommen von E_{112} wurde dieses Tier von der langschaligen Schnecke G_2 begattet. Die beiden Kreuzungspartner sind in der Abb. 16 links dargestellt. Zwei Tage danach legte E_{112} die nächste Eimasse ab. Unter den 72 aus ihr geschlüpfen Schnecken befanden sich 2, die ein wesentlich höheres Gewinde besaßen. In der Abb. 20 ist eines dieser beiden Tiere mit 9 kurzschaligen, gleichaltrigen Geschwisterschnecken dargestellt. Die Abb. 21 gibt das Verhältnis von Gewindehöhe und Schalenlänge während des Wachstums der letzten Schalenwindung wieder. Die Berechnung der mittleren maximalen Gewindehöhe der 70 kurzschaligen Schnecken ergab $\bar{x} = 7,8 \pm 1,06$; die beiden langschaligen Schnecken liegen demnach 5 bzw. 7 σ außerhalb des Mittelwertes. Aus der Abb. 19

(Kurve $E_{112,1}$) geht ferner hervor, daß diese beiden Schnecken im Bereich der durch Selbstbefruchtung entstandenen Nachkommen des langschaligen Tieres G_{12} liegen. Aus diesen Tatsachen sowie aus dem Umstand, daß sämtliche Tiere dieser Serie ständig gemeinsam im gleichen Zuchtbecken gehalten wurden, ist zu schließen, daß jene 2 Schnecken aus Eiern hervorgegangen sind, die von Spermien des Vaternieres G_2 befruchtet wurden.

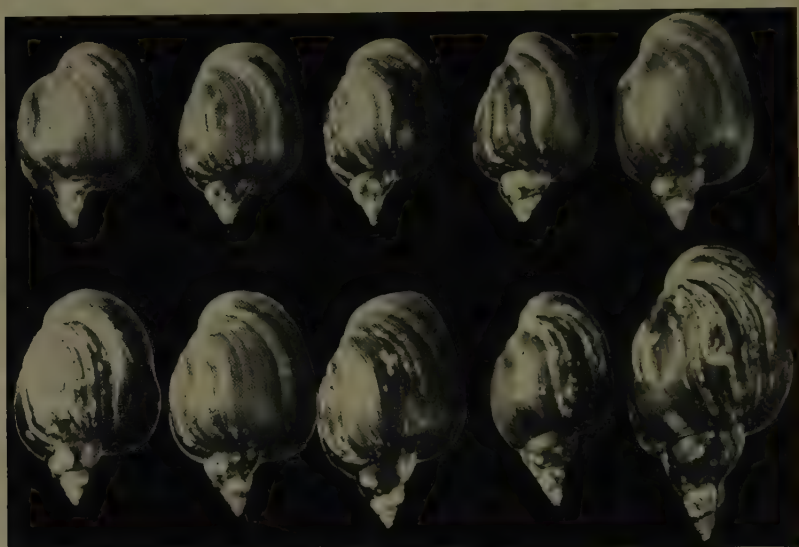


Abb. 20. Nachkommen von E_{112} , 2 Tage nach der Kreuzung dieser Schnecke mit dem langschaligen Tier G_2 abgelegt. In der unteren Reihe ist rechts ein hybrides Tier abgebildet. Die 9 anderen Schnecken sind durch Selbstbefruchtung entstanden.

Fünf Tage nach der Kreuzung legte E_{112} eine weitere Eimasse ab. Unter den 47 Nachkommen bildeten sich 2 nach ihrer Gewindehöhe deutlich getrennte Gruppen heraus. Die Maxima dieser Gruppen entsprechen den Maxima der durch Selbstbefruchtung entstandenen Nachkommen des Muttertieres und des Geschwistertieres des Vaters, G_{12} (vgl. Kurve $E_{112,2}$ der Abb. 19). In Abb. 22 sind die Schalen von 10 gleichaltrigen Schnecken dieser Serie abgebildet. In der oberen Reihe befinden sich Schalen mit kurzem, in der unteren Reihe solche mit langem Gewinde. Die Extremformen sind wiederum an die Enden der Reihen gestellt. Die 18 Tiere mit langem Gewinde betragen 38,3% der Gesamtzahl der Schnecken dieser Serie; sie können als hybrid angesehen werden.

Sieben Tage nach der Kreuzung legte E_{112} die nächste Eimasse ab. Die 72 Schnecken dieser Serie wiesen keine Trennung in Gruppen auf. Es zeigten sich zwar 2 Maxima, beide lagen jedoch im Bereich der reinrassigen Nachkommen des mütterlichen Tieres.

Die Fremdspermien vermögen demnach auch bei Schnecken, die sich schon durch Selbstbefruchtung vermehren können, die Eier zu befruchten. Aus der Doppelkurve $E_{112,2}$ (Abb. 19) ist sogar eine Bevorzugung der Femdspermien zu erschließen, denn der Anteil dieser Spermien an der Gesamtzahl der Spermatozoen des Zwitterganges beträgt sicherlich weniger als 38%. Die Kreuzungen zeigen ferner, daß das lange Gewinde über das kurze Gewinde dominiert.

III. Die Bedeutung der Fremdspermien bei ovulationsauflösender Begattung.

BOYCOTT und Mitarbeiter (1930) fanden bei *Lymnaea (Radix) peregra*, daß ein albinotisches, noch nicht eierlegendes Tier nach Begattung durch eine pigmentierte Schnecke zunächst fast ausschließlich pigmentierte Nachkommen hervorbrachte. Erst im Laufe weiterer Eiablagen traten ständig mehr Albinos auf. Es erschien daher angebracht, auch bei *Lymnaea stagnalis* mit Hilfe der als genetisch bedingt erkannten Schalenmerkmale ähnliche Untersuchungen anzustellen.

Zu diesen Versuchen wurden durch Selbstbefruchtung entstandene Nachkommen von E_{112} verwendet. Alle Tiere dieser Serie (R-Serie) hatten eine geringe Gewindehöhe; sie wurden von Jugend an isoliert aufgezogen. Zwei Schnecken dieser Serie, die noch nicht Eier legten, wurden im Alter von $3\frac{1}{2}$ Monaten miteinander gekreuzt. Das dabei begattete Tier, R_1 , legte 9 Tage später seine erste Eimasse ab, aus der 84 Nachkommen hervorgingen. In der Abb. 23 sind die Schalen der Eltern sowie 5 der nach der Gewindehöhe geordneten, 6 Monate alten Schalen der F_1 -Generation dargestellt. Aus der Kurve R_1 der Abb. 24

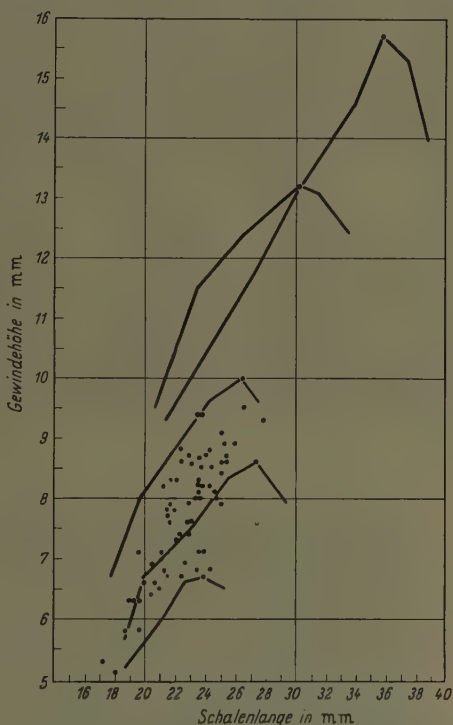


Abb. 21. Die Verteilung der maximalen Gewindehöhe unter den Nachkommen der einkreuzend begatteten Schnecke E_{112} . Auf der Ordinate ist die Gewindehöhe, auf der Abszisse die Schalenlänge aufgetragen. Jeder Punkt bezeichnet die maximale Gewindehöhe eines Tieres. Nachdem diese erreicht ist, greift bei weiterem Längenwachstum die Schalenmündung rückschreitend auf die alten Windungen über, so daß die Gewindehöhe ständig kleiner wird. Dies verdeutlichen die für die beiden Schnecken mit dem langen Gewinde sowie für 3 Tiere mit kurzem Gewinde eingezeichneten Kurven des Wachstums der Gewindehöhe.

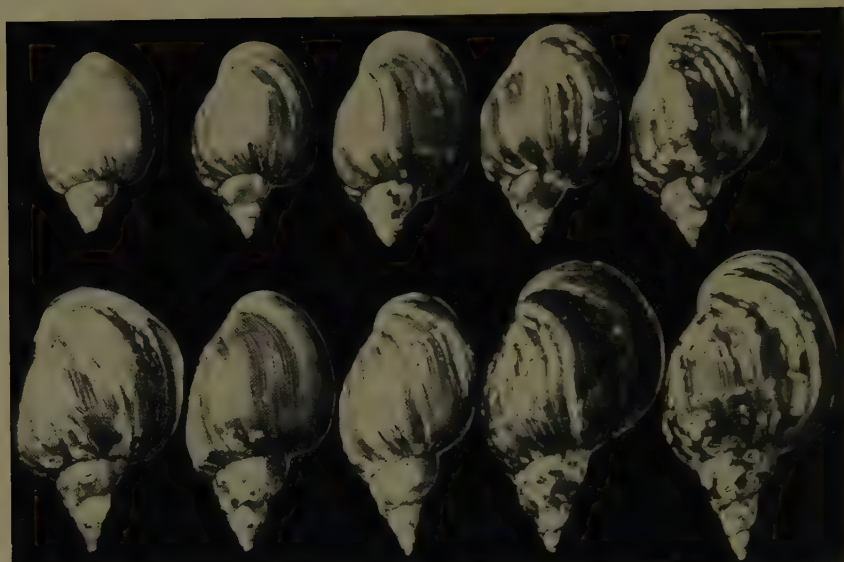


Abb. 22. Nachkommen von E_{112} , 5 Tage nach der Kreuzung abgelegt. Die Tiere der unteren Reihe sind durch Kreuzbefruchtung, die der oberen Reihe durch Selbstbefruchtung entstanden.

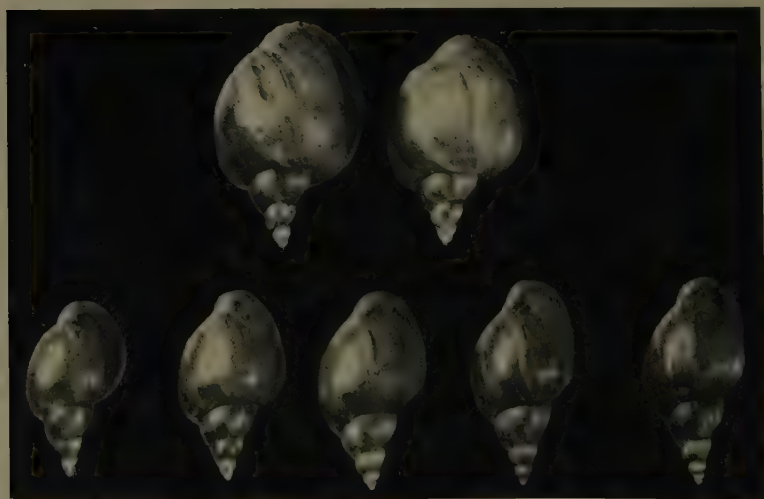


Abb. 23. Die in der oberen Reihe abgebildeten Tiere wurden miteinander gekreuzt; das rechte Tier (R_1) wurde dabei begattet. In der unteren Reihe sind 5 der Nachkommen von R_1 abgebildet, die aus der ersten, 9 Tage nach der Kreuzung abgelegten Eimasse schlüpften.

ist die prozentuale Verteilung aller Nachkommen zu ersehen. Es zeigt sich eine eingipfelige Kurve mit einem Maximum bei 10,5 mm Gewindehöhe.

Die Tiere R_4 und R_6 wurden von langschaligen, ebenfalls noch nicht eierlegenden Nachkommen der G-Serie begattet. Acht Tage später

legte R_6 zum erstenmal Eier. Im Alter von 6 Monaten zeigten die 37 Nachkommen eine maximale Anhäufung bei der Gewindehöhe 14,5 mm, vgl. Kurve R_6 in Abb. 24. Daneben kommen jedoch noch einige Schnecken mit geringer Gewindehöhe vor, die wohl auf eine Selbstbefruchtung zurückgeführt werden können.

Vergleicht man die Kurven R_1 und R_6 in der Abb. 24, so zeigt sich, daß die Nachkommen eines kurzschaligen Tieres, dessen Ovulation durch

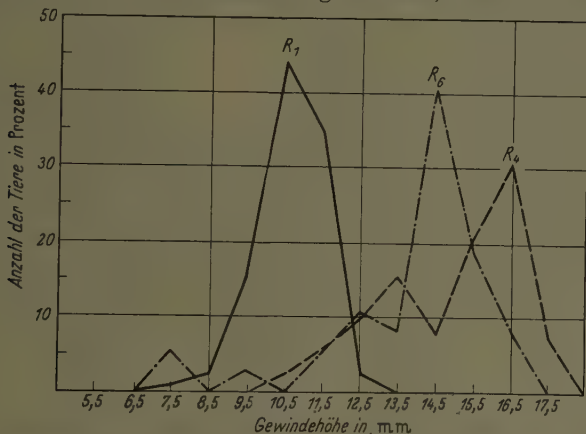


Abb. 24. Die Verteilung der Nachkommen von kurzschaligen Schnecken, die zuvor ovulationsauslösend begattet worden waren. Auf der Abszisse wurde die maximale Gewindehöhe in Millimeter, auf der Ordinate der jeweilige prozentuale Anteil von der Gesamtzahl der aus einer Eimasse geschlüpften Tiere aufgetragen. Zur Auslösung der Legetätigkeit wurde das Tier R_1 von einer kurzschaligen Schnecke, die Tiere R_4 und R_6 von je einer langschaligen Schnecke begattet. Die Schnecke R_4 wurde 6 Std nach der Begattung ductektomiert.

eine Begattung mit einer langschaligen Schnecke ausgelöst wurde, sehr weitgehend dem väterlichen Merkmal folgen. Die bei der Kopulation übertragenen Fremdspermien werden demnach bei der Befruchtung der Eier stark bevorzugt. Dies spricht für eine größere Befruchtungsfähigkeit dieser den eigenen Spermatozoen zahlenmäßig unterlegenen Spermien.

Es fragt sich nunmehr, ob diese größere physiologische Reife der Kopulationsspermien im herkömmlichen Sinn auf eine Beeinflussung der Spermien durch das Receptaculumsekret zurückgeführt werden kann. Die bisherigen Untersuchungen ließen es als unwahrscheinlich erscheinen, daß einmal ins Receptaculum gelangte Spermien nach Verlust ihrer Geißel noch besamungsfähig sind. BRETSCHNEIDER (1948a) beobachtete aber Spermapakete, die nach einer Begattung aus dem Receptaculum über den Oviduct in den Zwittergang einwandern. Es besteht daher die Möglichkeit, daß dieses umgewandelte Sperma diejenigen Fremdspermien beeinflusst, die sofort nach der Begattung zum

Zwittergang aufgestiegen sind. Um diese Möglichkeit auszuschalten, wurde dem Tier R_4 6 Std nach der Begattung ein Stück des Ductus receptaculi entfernt. Das zu diesem Zeitpunkt bis auf jenen oben erwähnten Anteil bereits gänzlich ins Receptaculum überführte Kopulationssperma kann damit nicht mehr in den Oviduct übertreten, wohl aber nach wie vor über das Receptaculumepithel die Ovulation auslösen.

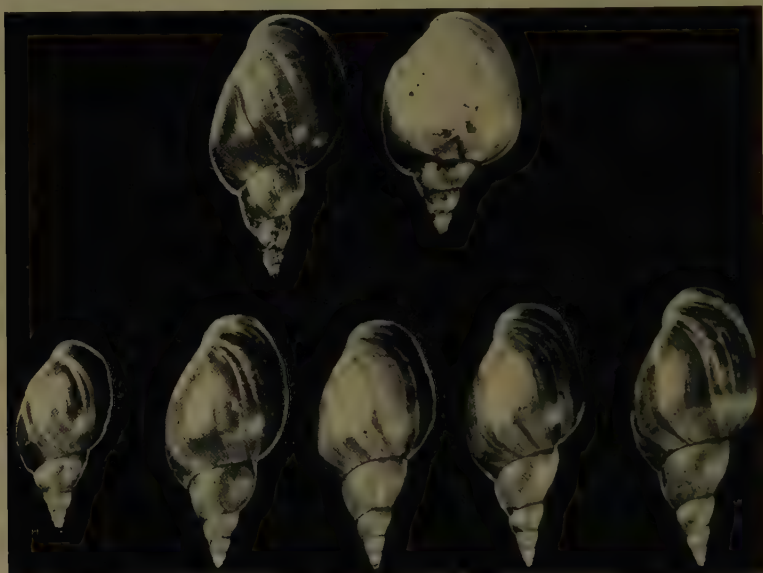


Abb. 25. Die beiden in der oberen Reihe abgebildeten Tiere wurden miteinander gekreuzt. Das langschalige Tier begattete dabei die kurzschalige Schnecke R_4 . Sechs Stunden nach der Begattung wurde R_4 ductektomiert. In der unteren Reihe sind 5 Nachkommen von R_4 abgebildet, die aus der ersten, 8 Tage nach der Kreuzung abgelegten Eimasse schlüpften. Die 4 rechtsstehenden Tiere sind hybrid, das linke Tier ist durch Selbstbefruchtung entstanden.

Acht Tage nach der Begattung legte R_4 zum erstenmal Eier. Die Kurve R_4 in der Abb. 24 gibt die prozentuale Verteilung dieser 37 Nachkommen wieder. Es zeigen sich 2 Maxima im Bereich von 13,5 und 16,5 mm Gewindehöhe. Die Kurve R_4 läßt im großen ganzen keinen Unterschied gegenüber der Kontrollkurve R_6 erkennen. In der Abb. 25 sind die Elterntiere und 5 gleichaltrige Nachkommen der Kreuzung abgebildet. Das in der unteren Reihe links stehende Tier stimmt in Schalengröße und Form durchaus mit den in Abb. 23 dargestellten, ebenfalls etwa 6 Monate alten Nachkommen von R_1 überein. Es kann daher für dieses Tier eine Entstehung durch Selbstbefruchtung angenommen werden. Alle übrigen Schalen der unteren Reihe von Abb. 25 gleichen in Gestalt und Gewindehöhe völlig dem Vaternier und beweisen wiederum den dominanten Erbgang dieser Merkmale.

Auf Grund dieser Befunde muß demnach geschlossen werden, daß weder die in das Receptaculum übertragenen Kopulationsspermien noch später in den Spermoviduct gelangende Umwandlungsprodukte derselben für eine Befruchtung der Eier bzw. Reifung dort bereits anwesender Spermien in Frage kommen. Das Sekret des Receptaculum seminis ist daher in keiner Weise für eine Reifung der Spermien bedeutsam. Zugleich wird bewiesen, daß die in den ersten 3 Std nach einer Begattung zum Zwittergang aufsteigenden Fremdspermien die Eier in einem überraschend hohen Prozentsatz befruchten, obwohl sie der Zahl nach den „mütterlichen“ Spermien weit unterlegen sind. Die größere physiologische Reife der Fremdspermien kann daher nicht auf eine direkte Berührung dieser Spermien mit dem Receptaculumsekret zurückgeführt werden.

IV. Versuch zur Klärung der physiologischen Reifung der Spermatozoen.

DE LARAMBERGUE (1939) beobachtete bei den Kreuzungen verschiedener pigmentierter Exemplare von *Bulimus contortus*, daß der Prozentsatz der Hybriden während der ersten Eiablagen nach der Kreuzung öfters anstieg und danach allmählich wieder abnahm. Von den in den Tabellen 19 und 20 (S. 176—179) angeführten 8 Blockdiagrammen der Eiablagen 7 einkreuzend begatteter Tiere zeigen 5 zwischen dem 3. und 11. Tag nach der Kreuzung die maximale Beteiligung der Hybriden an den Nachkommen der betreffenden Eimasse. Bei den übrigen 3 Serien wurde schon bei der ersten Eiablage, einen Tag nach der Begattung, das Maximum erreicht. Wie aus den Tabellen ferner hervorgeht, produzierten diese Schnecken nach der Ablage von 170—340 Eiern nur noch selbstbefruchtete Nachkommen.

Auch bei *Lymnaea stagnalis* wurde nach einkreuzender Begattung eine verzögerte maximale Befruchtung der Eier durch die Fremdspermien festgestellt. Während nämlich nur etwa 3% der Nachkommen von E_{112} , die aus der ersten, 2 Tage nach der Kreuzung abgelegten Eimasse schlüpften, hybrid waren, stieg der Anteil der Hybriden bei der zweiten, 3 Tage später abgelegten Eimasse auf 38%. Bei den Nachkommen der nächsten Eimasse ließ sich bereits wieder eine Abnahme der Bastarde feststellen. Unter den in der Abb. 19 nicht angeführten Nachkommen der ebenfalls einkreuzend begatteten Schnecke E_{98} waren ähnliche Verhältnisse zu beobachten.

Zwischen dem 2. und 5. Tag nach der Kreuzung hat sich nun die Anzahl der aktiven Fremdspermien im Zwittergang von E_{112} sicher nicht erhöht, denn aus dem Receptaculum dieses Tieres können zu dieser Zeit bestenfalls zersetzte Spermatozoen nachgeliefert werden. Es ist im Gegenteil sogar anzunehmen, daß die Fremdspermien infolge

ständiger Neubildung eigener Spermatozoen relativ zu diesen abgenommen haben. Wenn die Fremdspermien trotzdem stärker befruchten, als es ihrer Anzahl entspricht, so muß wohl ihre Befruchtungsfähigkeit zwischen dieser Zeit gestiegen sein.

Die auffällige Übereinstimmung zwischen dem Zeitpunkt der Resorption der im Receptaculum vorhandenen Aminosäuren und dem Zeitpunkt der maximalen Beteiligung der Fremdspermien an der Befruchtung läßt vermuten, daß resorbierte Spermasubstanzen die Fremdspermien im Zwittergang beeinflussen. Die Drüsenzellen des Zwitterganges könnten vielleicht zur Sekretion angeregt werden. Eine histologische Untersuchung des Zwitterganges zu verschiedenen Zeiten nach der Begattung zeigte jedoch keine auffallenden Veränderungen des Epithels. Andererseits besteht die Möglichkeit, daß Sekrete der Prostata oder des Oviducts auf die Fremdspermien während des Kopulationsvorganges einwirken. Dies könnte sich erst nach einigen Tagen in einer Steigerung der Befruchtungsfähigkeit dieser Spermien zeigen.

Die hier aufgeworfenen Fragen sind schwer zu lösen; es wurde jedoch versucht, wenigstens die Bedeutung des Prostatasekretes zu prüfen. Zu diesem Zweck wurde eine kurzschalige Schnecke (R_9) mit reinem Zwittergang sperma eines langschaligen Tieres künstlich begattet. R_9 pflanzte sich bereits durch Selbstbefruchtung fort. Zwei Tage vor dem Versuch begattete es eine andere Schnecke; dadurch wurde die Zahl der funktionsfähigen eigenen Spermien im Zwittergang stark herabgesetzt. Zur Ausführung der künstlichen Begattung wurde einem langschaligen Tier der Zwittergang vorsichtig herauspräpariert und in einem kleinen Tropfen 0,2%iger Kochsalzlösung zerzupft. Die Suspension lebhaft beweglicher Spermien wurde sofort in eine gebogene, zu einer stumpfen Kapillare ausgezogenen und mit einem zum Munde führenden Schlauch versehenen Pipette aufgesogen und der Schnecke R_9 vorsichtig intravaginal instilliert. Dies ließ sich mühelos ausführen, ohne daß das locker mit den Fingern gehaltene, nicht betäubte Tier Abwehrreaktionen zeigte.

Aus der etwa 6 Tage später abgelegten Eimasse dieses Tieres konnten leider nur 13 Schnecken großgezogen werden. Keine von ihnen erreichte innerhalb von 5 Monaten eine über 11,6 mm liegende Gewindehöhe. Die 6 größten Tiere dieser Serie entsprachen in Schalengröße und Form völlig der Mutter, die übrigen hatten einen oder mehr weniger verzweigten Wuchs. Es ist daher anzunehmen, daß alle 13 Schnecken auf Selbstbefruchtungen zurückzuführen sind.

Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß der Kontakt der Spermatozoen mit dem Prostatasekret bei der Kopulation für die physiologische Reifung dieser Spermien bedeutsam sein könnte. Das Problem ist jedoch bei weitem noch nicht geklärt.

F. Die Bedeutung der Befunde für die Fortpflanzungsphysiologie der Pulmonaten.

Bei *Lymnaea stagnalis* wird das Sperma bei der Begattung in die Vagina abgegeben. Eine verhältnismäßig geringe Anzahl dieser Spermatozoen wandert sofort über eine mit Flimmerepithel ausgekleidete Rinne, die durch den Oviduct verläuft, in den Zwittergang ein. Diese Spermien sind die einzigen Kopulationsspermien, welche die Eier befruchten.

Die in der Vagina zurückbleibenden Spermien werden durch die Peristaltik der Vagina und des Ductus in das Receptaculum seminis gepumpt. Dort werden sie nach wenigen Stunden unbeweglich und einige Tage später zersetzt.

Einige Tage nach der Begattung wird die Ovulation von dem mit Sperma gefüllten Receptaculum ausgelöst. Das zersetzte Sperma liefert demnach einen Faktor, der nach Resorption durch das Receptaculum-epithel die Ovocyten in den Follikeln schneller reifen oder ovulieren läßt.

Die Ovocyten werden nach der Ovulation im Zwittergang besamt. Einige Stunden später vereinigen sich die Chromosomen des Spermiums und des Eies zur ersten Furchungsspindel. Die bei einer Kopulation übertragenen Spermien befruchten die Eier bevorzugt, obwohl die wesentlich zahlreicheren eigenen Spermien des Zwittertieres ebenfalls befruchtungsfähig sind. Diese physiologische Reife erreichen die Fremdspermien erst nach mehrtägigem Aufenthalt im Zwittergang des begatteten Tieres. Hierbei ist vermutlich das Prostatasekret bedeutsam, mit dem diese Spermien während der Kopulation in Berührung kamen.

In den folgenden Ausführungen soll versucht werden, diese Ergebnisse mit den Befunden in Einklang zu bringen, die bei anderen Pulmonaten gewonnen wurden. Hierbei zeigen sich 2 Hauptpunkte, die gesondert betrachtet werden sollen, nämlich die Auslösung der Ovulation und die selektive Befruchtung der Eier durch die Fremdspermien.

Bei den Pulmonaten gibt es Arten, die sich nicht ohne Begattung fortpflanzen können. Daneben kommen jedoch Arten vor, bei denen diese Vermehrungsweise stets möglich ist. Selbst innerhalb der Gattungen finden sich hier krasse Unterschiede. So ist nach LUTHER (1915) bei *Agriolimax reticulatus* eine Selbstbefruchtung äußerst selten, bei *Agriolimax agrestis* hingegen durchaus gewöhnlich. Auch *Tropidiscus carinatus* (*Planorbis carinatus*) pflanzt sich ohne Begattung gegenüber anderen Planorbiden sehr selten fort (DE LARAMBERGUE 1939).

In Analogie zu den Verhältnissen bei *Lymnaea stagnalis* könnte man sich nun vorstellen, daß die Eier derjenigen Pulmonatenarten, die sich nicht ohne Begattung vermehren können, unbedingt auf einen Faktor angewiesen sind, den das mit Sperma gefüllte Receptaculum liefert. Werden die Tiere dieser Arten begattet oder dringt eigenes Sperma in

das Receptaculum ein — eine Möglichkeit, die von KÜNKEL (1916) für die Nacktschnecken nachgewiesen wurde —, so wird die Ovulation ausgelöst. Mit dieser Auffassung stimmt eine Beobachtung von IKEDA (1937) überein. Dieser fand bei unbegatteten, eierlegenden Exemplaren von *Philomycus bilineatus* große Spermienmengen im Receptaculum. Im Gegensatz hierzu ist das Receptaculum isolierter Tiere von *Bradybaena similis stimpsoni* völlig oder fast völlig frei von Spermien. Diese Art legt ohne Begattung sehr selten Eier (IKEDA und EMURA 1934).

BAUDELLOT (1863) stellte die Hypothese auf, daß sich die hermaphroditischen Schnecken selbst befruchten können. Die Begattung könnte lediglich die Aufgabe haben, die Ovulation auszulösen. Zur Prüfung dieser Annahme schlug er vor, verschiedene Arten miteinander zu kreuzen. LANG (1911, 1912) führte dieses Experiment durch, vermutlich ohne die Arbeit von BAUDELLOT gekannt zu haben. Er kreuzte *Cepaea hortensis* und *Cepaea nemoralis* mit *Cepaea austriaca*. Während sich diese Arten ohne Begattung nur äußerst selten fortpflanzen, legten die gekreuzten Individuen relativ häufig Eier. Sie hatten nach der Untersuchung von BALTZER (1913) einen diploiden Chromosomensatz. Es kann daher wohl Selbstbefruchtung angenommen werden, denn eine parthenogenetische Entwicklung ist wenig wahrscheinlich.

Diese Untersuchung bestätigt die Annahme BAUDELLOTS, daß eine Begattung die Ovulation auslöst. Kreuzungen verschiedener Rassen der gleichen Art zeigten jedoch, daß die bei einer Begattung übertragenen Spermien die Eier befruchten können. Die oben angeführte Vermutung von BAUDELLOT ist daher nur teilweise richtig.

Bei den Basommatophoren kann die Ovulation auch noch auf andere Weise ausgelöst werden. Die Untersuchungen an *Lymnaea stagnalis* zeigten nämlich, daß Tiere, denen das Receptaculum operativ entfernt wurde, ohne Beeinträchtigung ihrer Fruchtbarkeit Eier legen können. Eine Begattung beschleunigt jedoch den Beginn der Legetätigkeit. Bei anderen Basommatophoren wurden zum Teil davon abweichende Beobachtungen gemacht. So zeigten unbegattete Exemplare von *Lymnaea columella* (WINSOR und WINSOR 1935) und *Bulinus contortus* (DE LARAMBERGUE 1939) gegenüber begatteten Tieren keine Verzögerung im Beginn der Legetätigkeit.

Dies spricht jedoch nicht gegen die oben ausgesprochene Annahme, daß vom Receptaculum nach einer Begattung ein ovulationsauslösender Faktor geliefert wird. Schon bei *Lymnaea stagnalis* zeigte sich nämlich, daß die Ovulation doppelt gesichert ist. Bei Ausbleiben einer Begattung setzte die Legetätigkeit später spontan ein. Wenn nun dieses zweite, vielleicht in den Eiern selbst gelegene Prinzip der Ovulationsauslösung zur Auswirkung kommt, sobald die Tiere überhaupt geschlechtsreif sind, so kann eine Begattung gar keinen Einfluß mehr auf

den Beginn der Legetätigkeit haben. Denn auch nach einer Begattung erfolgt die Eiablage erst, nachdem die Tiere geschlechtsreif geworden sind.

DE LARAMBERGUE (1939) konnte bei *Bulimus contortus* mehrfach eine über 90 % liegende Beteiligung der Fremdspermien an der Befruchtung feststellen. BOYCOTT und Mitarbeiter (1930) fanden bei *Lymnaea (Radix) peregra* nach ovulationsauslösender Begattung ebenfalls eine völlige oder nahezu absolute Bevorzugung des Fremdspermias. Unsere Untersuchungen an *Lymnaea stagnalis* zeigten gleichfalls eine zum Teil sehr starke Beteiligung der Fremdspermien an der Befruchtung. So waren bei ovulationsauslösender Begattung 80—90 % der Nachkommen einer Eimasse hybrid.

Diese selektive Befruchtung der Eier kann nicht durch eine selektive Sterblichkeit der durch Selbstbefruchtung entstandenen Embryonen erklärt werden, denn die 3 oben erwähnten Arten pflanzten sich bei Ausbleiben einer Begattung ohne Beeinträchtigung ihrer Fruchtbarkeit fort. Dafür spricht auch, daß COLTON und PENNYPACKER (1934) die verwandte Art *Lymnaea columella* 20 Jahre lang selbstzen konnten, ohne daß sich irgendwelche Schäden gezeigt hätten.

DE LARAMBERGUE deutete die selektive Befruchtung der Pulmonaten als „unvollständige Parasterilität“ (BRIEGER 1930). Die im Zwittergang einer Schnecke anwesenden Spermien dieses Tieres sind zwar durchaus in der Lage, die vom gleichen Tier stammenden Eier zu befruchten, im Wettstreit mit den Fremdspermien sind sie jedoch diesen bei der Befruchtung unterlegen. Diese Konkurrenz der beiden Spermienarten um das Ei führt zu einer mehr oder weniger ausgeprägten selektiven Befruchtung. Als Ursache hierfür vermutete DE LARAMBERGUE eine zwischen Gameten verschiedener genetischer Herkunft herrschende stärkere Anziehungskraft, eine größere Beweglichkeit der möglicherweise auf ihrem Weg durch den männlichen Genitaltrakt und den Oviduct aktivierten Fremdspermien oder aber eine zeitweilige Unverträglichkeit der Gameten gleichen Ursprungs.

Die vorliegende Untersuchung an *Lymnaea stagnalis* kann über die Bestätigung einer selektiven Befruchtung hinaus auch nicht mehr als Vermutungen liefern. Es erschien jedoch angebracht, auf den zur Lösung des Problems entscheidenden Befruchtungsvorgang näher einzugehen. Vielleicht lassen sich dabei Anknüpfungspunkte für spätere Untersuchungen finden.

Die Eier der *Lymnaea stagnalis* werden, wie es bei den Pulmonaten wohl allgemein der Fall ist, vor den Reifungsteilungen besamt. Das befruchtende Spermium wandelt sich erst einige Stunden nach der Besamung, wenn das Ei abgelegt wird und die Reifungsteilungen erfolgt sind, in den männlichen Vorkern um (CRABB 1927 b, RAVEN 1945, 1948).

Nach den Untersuchungen von CRABB (1927 b) und BRETSCHNEIDER (1948 a) werden die Eier in der Regel polysperm besamt, nach DE LARAMBERGUE (1939) soll jedoch Monospermie vorliegen. Alle Spermien bis auf eines, gewöhnlich im zentralen Cytoplasma gelegenes, lösen sich jedoch bald nach ihrem Eindringen unter Schwellung des Kopfes auf. Das unversehrt bleibende Spermium führt wahrscheinlich später die Befruchtung durch. Da DE LARAMBERGUE Eier untersuchte, die bereits abgelegt worden waren, hat er vermutlich nur noch dieses Spermium bemerken können.

Die eigenen cytologischen Untersuchungen an frisch ovulierten Eiern bestätigen die Polyspermie bei *Lymnaea stagnalis*. Es gelang, den Zwittergang eines Tieres, das 4 Tage vorher ovulationsauslösend begattet worden war, zur Zeit der ersten Eiablage zu fixieren. Von den 27 Eiern, die in diesem Zwittergang gefunden wurden, waren 6 monosperm, 5 vermutlich disperm, 9 sicher disperm und 4 trisperm besamt, während 3 unbesamt geblieben waren.

Setzt man diese Befunde mit der selektiven Befruchtung in Beziehung, so zeigt sich, daß die beiden Spermienarten an 2 Stellen miteinander in Konkurrenz treten können, nämlich einmal an der Eioberfläche und zum anderen im Inneren des Eies selbst. Möglicherweise können die Fremdspermien — vielleicht auf Grund größerer Aktivität oder stärkerer Ausbildung lytischer Substanzen — schneller als die eigenen Spermien die Eimembran durchstoßen. Es wäre aber auch vorstellbar, daß die Auslese der Fremdspermien erst vom Eioplasma selbst nach dem Eindringen der beiden Spermienarten getroffen wird. Vielleicht bestehen bei diesen in der Regel polyspermen Eiern zwischen Ei- und Spermakern Affinitäten, von deren Existenz man noch nichts ahnt. Es ist nämlich von vornherein nicht einzusehen, warum nicht auch noch im Eioplasma selbst Substanzen etwa gamonartiger Natur zwischen den beiden Gametenkernen wirken sollten. Der einer Steuerung bedürftige Befruchtungsprozeß ist ja erst mit der Karyogamie abgeschlossen. Daß zwischen Besamungs- und Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen unterschieden werden kann, zeigten bereits die Untersuchungen von BOVERI (1888) und TEICHMANN (1903) an *Echinus microtuberculatus*. Nach Behandlung mit 0,05%iger Kalilauge können die Spermien dieses Seeigels die Eier zwar normal besamen und die Entwicklung anregen, zur Karyogamie kommt es jedoch meistens erst im 4-Zellstadium.

IKEDA (1937) erklärt die unterschiedliche Fähigkeit zur Selbstbefruchtung bei den Stylommatophoren durch die verschieden ausgeprägte Wanderfähigkeit ihrer Spermatozoen. Dieser Schluß ist in gewissem Sinn berechtigt. Unbegattete, eierlegende Nacktschnecken besitzen nämlich gewöhnlich ein Receptaculum, das mit Spermien gefüllt ist. Aus dieser Tatsache wurde jedoch oft abgeleitet, daß die Spermatozoen

das Receptaculum passieren müssen, um befruchtungsfähig zu werden. Auf Grund unserer Untersuchungen scheint es jedoch wahrscheinlicher, die auch bei den Stylommatophoren im Receptaculum festgestellte Spermatolyse (MEISENHEIMER 1912, KÜNKEL 1916, DORELLO 1926, 1927, RICHTER 1935, IKEDA 1937) mit einer Resorption von Spermatoffen in Zusammenhang zu bringen. Möglicherweise können diejenigen Stylommatophoren, bei denen das eigene Sperma nicht ins Receptaculum gelangen kann, sich nicht deshalb fortpflanzen, weil ihre Spermien besamungsunfähig sind, sondern weil bei ihnen die Ovulation ausbleibt. Die Frage, ob darüber hinaus ihre Spermien nur nach Berührung mit den Sekreten der Prostata oder gar des Receptaculums befruchtungsfähig werden, muß offenbleiben, da bei Stylommatophoren bisher noch keine Untersuchungen darüber vorliegen. Bei der basommatophoren Schnecke *Lymnaea stagnalis* konnte jedenfalls gezeigt werden, daß die Spermatozoen des Zwitterganges ohne Berührung mit den Sekreten der ableitenden Wege befruchtungsfähig sind. Trotzdem werden die Eier vornehmlich von den Fremdspermien befruchtet, weil diese im Zwittergang des begatteten Tieres eine Reifung durchmachen, die ihre Befruchtungsfähigkeit steigert. Diese Nachreifung ist von einem direkten Einfluß des Receptaculumsekretes unabhängig.

Im Gegensatz zu den Basommatophoren sind die Eier der Stylommatophoren vermutlich stets auf eine Stimulation durch das mit Sperma gefüllte Receptaculum angewiesen. Dabei ist es belanglos, ob dieses Sperma vom eigenen oder von einem fremden Tier stammt.

Es kann angenommen werden, daß dieser Mechanismus der Ovulationsauslösung im Verein mit der selektiven Befruchtung der Eier durch die Fremdspermien unter natürlichen Bedingungen auch bei den Pulmonaten die Fortpflanzung durch Kreuzung sichert.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode zur Ausführung verschiedener Operationen am Genitaltrakt der *Lymnaea stagnalis* beschrieben.

2. Bei der Begattung wird das Sperma regelmäßig in die Vagina abgegeben. Eine relativ kleine Anzahl von diesen Spermien — etwa einige Tausend — wandert in den ersten 2—3 Std nach der Kopulation, unterstützt von ovarwärts schlagenden Cilien einer Flimmerrinne, durch den Oviduct in den Zwittergang ein. Die Hauptmenge des Kopulations-spermas gelangt danach passiv durch die Peristaltik der Vagina und des Ductus receptaculi in das Receptaculum seminis. 4—5 Std nach der Begattung ist die Vagina wieder spermienfrei.

3. Nach 2stündigem Aufenthalt im Receptaculum verlieren die Spermien unter dem Einfluß des Sekrets dieses Organs irreversibel ihre

Bewegungsfähigkeit. Sie erleiden vom 2. Tag nach der Begattung an eine fortschreitende Zersetzung ihrer Geißel und später auch ihres Kopfes.

Im Receptaculum wird unmittelbar nach dem Eindringen des Kopulationsspermas eine größere Anzahl Aminosäuren durch fermentativen Eiweißabbau gebildet. Die Proteinase stammt wahrscheinlich aus dem Lumen des Receptaculums, das Substrat liefert vermutlich das Prostatasekret des Kopulationsspermas. Zwischen dem 2. und 4. Tag nach der Begattung werden die Aminosäuren vom Receptaculum resorbiert.

Sogleich nach dem Eindringen des Spermas ins Receptaculum treten die Drüsenzellen dieses Organs in eine merocrine Sekretionsphase ein. Die dabei am apikalen Zellpol gebildeten Sekretbläschen werden bis zum 2. Tag nach der Begattung ins Lumen des Receptaculums abgegeben. Danach haben die Epithelzellen wieder eine geschlossene Zellmembran.

Dieses von den Epithelzellen nach einer Begattung abgegebene Sekret ist nicht für die Bildung der Aminosäuren, wohl aber für die 2 Tage nach der Begattung beginnende Spermatolyse verantwortlich zu machen. Die zeitliche Übereinstimmung zwischen der papierchromatographisch nachgewiesenen Resorption der Aminosäuren und dem Ende der Sekretionsphase des Receptaculumepithels führt zu dem Schluß, daß die Epithelzellen nach Abgabe ihres Sekrets in eine Resorptionsphase eintreten.

4. Von Jugend an isolierte Schnecken legen nach einmaliger Begattung deutlich früher Eier als unbegattete, ebenfalls isolierte Kontrolltiere. Diese Beschleunigung der Legetätigkeit wird von dem mit Kopulationssperma gefüllten Receptaculum seminis veranlaßt. Zwischen der Begattung und der ersten Eiablage verstreichen 5—11, im Mittel 7 Tage.

Die spontan einsetzende Legetätigkeit unbegatteter Schnecken ist vom Receptaculum unabhängig, denn operativ ihrer Receptacula beraubte Tiere legen gegenüber unbegatteten Kontrolltieren ohne Verzögerung Eier.

Die Befunde über die Ovulationsauslösung nach einer Begattung lassen sich durch die Annahme erklären, daß ein vom Receptaculum resorbierter Spermafaktor die Ovocyten beeinflusst. Unter der Wirkung dieses Faktors erreichen die Ovocyten die Ovulationsreife schneller, als es bei Ausbleiben einer Begattung der Fall wäre. Die im Receptaculum nach einer Begattung entstehenden und resorbierten Aminosäuren sind mit dem ovulationsauslösenden Spermafaktor vermutlich nicht identisch.

5. Die Spermatozoen des Zwitterganges können die vom gleichen Tier stammenden Eier befruchten, ohne vorher mit den Sekreten der Prostata, des Receptaculums oder des Oviducts in Berührung kommen zu müssen.

Von den bei einer Kopulation übertragenen Spermien kommen allein diejenigen zur Befruchtung, die unmittelbar nach der Begattung zum Zwittergang aufgestiegen sind. Diese Spermien befruchten die Eier bevorzugt, obwohl ihnen die dem begatteten Tier gehörenden und ebenfalls befruchtungsfähigen Spermatozoen der Zahl nach weit überlegen sind. Diese selektive Befruchtung betrug bei einkreuzender Begattung maximal 38%, bei ovulationsauslösender Begattung sogar 80—90%.

Die Kopulationsspermien machen im Zwittergang des begatteten Tieres eine mehrtägige physiologische Nachreifung durch, die zu einer Steigerung ihrer Befruchtungsfähigkeit führt. Dieser Prozeß ist von einem direkten Einfluß des Receptaculumsekrets unabhängig. Es wird vermutet, daß das Prostatasekret, mit dem die Fremdspermien während der Kopulation in Berührung kamen, bei dieser Reifung eine Rolle spielt.

6. Das Receptaculum seminis der *Limnaea stagnalis* ist weder ein Speicher- noch ein Reifungsorgan für die Spermien. Seine Funktion scheint sich vielmehr auf einen Abbau und eine Resorption überzähliger Spermien und der damit verbundenen Auslösung der nach einer Begattung früher einsetzenden Legetätigkeit zu beschränken.

7. Die Gewindehöhe des Gehäuses von *Limnaea stagnalis* kann erblich fixiert sein. Kurze Gewindehöhe ist gegenüber langer rezessiv.

8. Der Beitrag dieser Ergebnisse zu der Fortpflanzungsphysiologie der Pulmonaten wird erörtert. Es wird eine Hypothese zur Erklärung des unterschiedlichen Grades der Selbstbefruchtung bei den einzelnen Pulmonaten aufgestellt.

Literatur.

BAER, K. E. v.: Selbstbefruchtung an einer hermaphroditischen Schnecke beobachtet. Arch. Anat., Physiol. u. wiss. Med. 1835, 224. — BALTZER, F.: Über die Chromosomen der *Tachea (Helix) hortensis*, *T. austriaca* und der sogenannten einseitigen Bastarde *T. hortensis* $\times$ *T. austriaca*. Arch. Zellforsch. 11, 151—168 (1913). — BAUDELLOT, E.: Recherches sur l'appareil générateur des Mollusques Gastéropodes. Ann. Sci. natur. Paris, Zool. 19, 135—222, 268—294 (1863). — BOVERI, TH.: Über partielle Befruchtung. Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. München 4, 2 (1888). — BOYCOTT, A. E., C. DIVER, S. L. GARSTANG and F. M. TURNER: The inheritance of sinistrality in *Limnaea peregra*. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Ser. B 219, 51—131 (1930). — BRETSCHNEIDER, L. H.: Insemination in *Limnaea stagnalis*. Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. 51, 358—362 (1948a). — The mechanism of oviposition in *Limnaea stagnalis*. Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. 51, 616—626 (1948b). — BRETSCHNEIDER, L. H., u. CHR. P. RAVEN: Structural and topochemical changes in the egg cells of *Limnaea stagnalis* L. during oogenesis. Arch. néerl. Zool. 10, 1—31 (1951). — BRIEGER, FR.: Selbststerilität und Kreuzungssterilität. Monogr. Physiol. Pflanz. u. Tiere 21 (1930). — COLTON, H. S., and M. PENNYPACKER: The results of twenty years of self-fertilization in the pond snail *Limnaea columella* SAY. Amer. Naturalist 68, 129—136 (1934). — CRABB, E. D.: Anatomy and function of the reproductive system in the snail, *Limnaea stagnalis appressa* SAY. Biol. Bull. 53, 55—66 (1927a). — The fertilization process in the snail, *Limnaea stagnalis appressa* SAY. Biol. Bull. 53,

67—108 (1927b). — CRAMER, FR.: Papierchromatographie. Monographien Angewandte Chemie und Chemie-Ingenieur-Technik, Nr 64. Weinheim: Verlag Chemie 1953. — DORELLO, P.: Fenomeni che si osservano dopo l' accoppiamento nell'apparechio genitale del gen. *Helix*. Boll. Ist. zool. Univ. Roma **3**, 1—37 (1926); **4**, 1—76 (1927). — HOLM, L. W.: Histological and functional studies on the genital tract of *Lymnaea stagnalis appressa* SAY. Trans. Amer. Microsc. Soc. **65**, 45—68 (1946). — IKEDA, K.: The spermatozoa of *Philomycus bilineatus* with special reference to their metamorphosis in the receptaculum seminis. Annot. Zool. Japon. **12**, 295—321 (1929). — Cytogenetic studies on the self-fertilization of *Philomycus bilineatus* BENSON. J. Sci. Hiroshima, Ser. B Zoology **5**, 67—123 (1937). — IKEDA, K., and S. EMURA: On the possibility of self-fertilization and longevity of spermatozoa in the receptaculum seminis in a land snail, *Bradybaena similis simpsoni* (PFEIFFER). Venus **4**, 208—224 (1934). — KÜNKEL, K.: Zur Biologie der Lungenschnecken. Heidelberg 1916. — LANG, A.: Fortgesetzte Vererbungsstudien. Z. Abstammungslehre **5**, 97—138 (1911). — Vererbungswissenschaftliche Miscellen. Z. Abstammungslehre **8**, 249—251 (1912). — LARAMBERGUE, MARC DE: Étude de l'autofécondation chez les Gastéropodes Pulmonés. Recherches sur l'aphalli et la fécondation chez *Bulimus (Isidora) contortus* MICHAUD. Bull. biol. France et Belg. **73**, 19—231 (1939). — LUTHER, A.: Zuchtversuche an Acker-schnecken. Acta Soc. Fauna et Flora fenn. **40**, 3—42 (1915). — MEISENHEIMER, J.: Die Weinbergschnecke, *Helix pomatia* L. Leipzig 1912. — MIEGEL, H.: Über Formveränderungen bei Mollusken aus einigen ostholsteinischen Seen. Arch. f. Hydrobiol. **23**, 391—461 (1932). — PERROT, J. L.: La fécondation chez *Arion empiricorum* FER. C. r. Soc. Physique et Hist. natur. **56**, 30—32 (1939). — La fécondation chez *Limax maximus*. Rev. suisse Zool. **47**, 371—379 (1940). — PREVOST, C.: De la génération chez le *Lymnée (Helix) palustris*. Ann. Sci. natur. Paris, Zool. **30**, 33—42 (1833). — RAVEN, CH. P.: The development of the egg of *Limnaea stagnalis* from oviposition till first cleavage. Arch. néerl. Zool. **7**, 91 bis 121 (1945). — The chemical and experimental embryology of *Limnaea*. Biol. Rev. **23**, 333—369 (1948). — RICHTER, E.: Der Bau der Zwitterdrüse und die Entstehung der Geschlechtszellen bei *Agriolimax agrestis* L. Jena. Z. f. Naturwiss. **69**, 507—544 (1935). — SIMROTH, H., u. H. HOFFMANN: Pulmonata. In BRONNS Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. 3, Abt. 2, 2. Buch. Leipzig 1928. — STEINER, M.: Herstellung und Prüfung geeigneter Reaktionsbedingungen. In E. BAMANN u. K. MYRBÄCK, Die Methoden der Fermentforschung, Bd. 1, S. 761 bis 833. 1941. — TEICHMANN, E.: Über Furchung befruchteter Seeigeleier ohne Beteiligung des Spermakerns. Jena. Z. Naturwiss. **30**, 105—132 (1903). — THIELE, G.: Vergleichende Untersuchungen über den Feinbau und die Funktion der Mitteldarmdrüse einheimischer Gastropoden. Z. Zellforsch. **38**, 87—138 (1953). — WINSOR, CH. P., and A. A. WINSOR: Longevity and fertility in the pond snail, *Lymnaea columella*. J. Wash. Acad. Sci. **25**, 302—307 (1935).

Dr. HANS-JOACHIM HORSTMANN, Erlangen, Zoologisches Institut,
Universitätsstr. 19.

Aus dem Institut für kinematische Zellforschung Frankfurt a. M.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE VARIABILITÄT ZWEIER
RASSEN VON *APIS MELLIFICA* L. SOWIE IHRER KREUZUNG
UNTER ANWENDUNG DER GRAPHISCHEN FORM-
UND KORRELATIONSANALYSE

Von

GERDA KUNZE

Mit 26 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. August 1955)

Inhalt

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	269
B. Material	272
C. Beschreibung der Merkmale	272
I. Bisher an der Biene gemessene Merkmale	272
II. Die für die vorliegende Untersuchung verwandten Merkmale	275
D. Meßmethode	278
E. Auswertung der gewonnenen Maße	280
I. Die Variabilität der Merkmale	280
1. Tabellen der Mittelwerte, Extremwerte und der Streuung	281
2. Gegenüberstellung der Krainer und Italiener Rasse auf Grund von Mittelwert und Streuung	283
3. Vergleich der Kreuzung mit ihren Ausgangsrassen	286
4. Vergleich der Variabilitätskoeffizienten der einzelnen Merkmale	288
II. Analyse der korrelativen Beziehungen zwischen den Merkmalen	290
1. Feststellung der Korrelationen mit Hilfe der <i>Graphischen Form- und</i> <i>Korrelationsanalyse</i> an je 100 Tieren	290
2. Berechnung des <i>Korrelationsgrades</i> aus den graphischen Darstellungen	294
3. Vergleich der Ergebnisse der Korrelationsauswertung	302
4. Gegenüberstellung der Korrelationen der Krainer und Italiener Rasse	311
5. Die Korrelationen der Kreuzung und ihrer Ausgangsrassen	314
F. Berechnung des <i>Korrelationsgrades</i> an nur 50 Tieren	317
G. Der Wert der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve als Maß der Variabilität	319
H. Die Symmetrieverhältnisse der einzelnen Merkmale	321
I. Zusammenfassung der Ergebnisse	325
Literatur	327

A. Einleitung und Fragestellung

Von den verschiedenen Rassen der Honigbiene *Apis mellifica* L. sind in Mitteleuropa hauptsächlich drei von Bedeutung: Als erste die *Deutsche*

*Biene Apis mellifica mellifica*¹. Sie ist glänzend schwarz und verhältnismäßig lang behaart. Daneben die aus den Tälern der Ostalpen stammende graue *Krainer Biene Apis mellifica carnica* und die *Italiener Biene Apis mellifica ligustica*, die sich in ihrem einerseits durch die Alpen und andererseits durch das Meer sehr abgeschlossenen Verbreitungsgebiet besonders isoliert entwickeln konnte. Sie ist durch ihre hellbraune Farbe und zwei oder mehr gelbe Ringe an den vorderen Segmenten des Abdomen charakterisiert.

Da ein reinrassiges Bienenvolk immer eine beständigere Leistung aufweisen wird als ein Mischvolk, ist es für die Bienenzüchtung von großem Wert, die Rassenreinheit möglichst genau bestimmen zu können. Dies setzt voraus, daß man die *typische Form* der betreffenden Rassen kennt, was wiederum nur durch eingehende variationsstatistische Studien vieler Merkmale erreicht werden kann. Die Unterscheidung der Bienensassen allein nach der *Ausfärbung* ihres Chitinpanzers, wie sie bis Anfang dieses Jahrhunderts ausschließlich durchgeführt wurde, erwies sich als unzureichend, als man feststellte, daß die Färbung *innerhalb einer Rasse stark variiert* und z. B. bei der Krainer Rasse helle und dunkle Formen nebeneinander auftreten (ARMBRUSTER 1923). Frühere Untersuchungen, vor allem über die Variabilität einzelner Merkmale des Bienenflügels hinsichtlich der unterschiedlichen Ausbildung bei Arbeiterinnen, Drohen und Königinnen und auch bei verschiedenen Rassen, gaben für eine Rassenunterscheidung keine Anhaltspunkte. Sie waren teils an zu geringem Material, teils mit ungenügenden statistischen Methoden durchgeführt und ließen lediglich über den verschiedenen Grad der Variabilität einzelner Merkmale etwas erkennen. (KOSCHEVNIKOW 1900, KELLOGG und BELL 1904, PHILLIPS und CASTEEL 1904, 1905, 1927, u.a.). Dagegen führten Arbeiten russischer Forscher (CHOCHLOW 1916, ALPATOW 1925, 1929, MIKHAILOW 1926 und SKORIKOW 1930), vor allem über die *Länge des Rüssels*, zu einer Unterscheidungsmöglichkeit verschiedener russischer Bienensassen. ALPATOW wies eine gesetzmäßige Beziehung zwischen geographischer Breite und der Länge des Rüssels nach; südliche Bienensassen haben also einen längeren Rüssel als nördliche.

Eine eingehende Merkmalsanalyse der mitteleuropäischen Bienensassen wurde erst von GOETZE durchgeführt. Es gelang ihm, Merkmale zu finden und zu messen, die es gestatten, die Deutsche Biene von der Krainer und Italiener Biene zu unterscheiden. Seine Ergebnisse wurden im wesentlichen von RUTTNER (1952) und KRCZAL (1952), deren Arbeiten auf denen GOETZES aufbauen, bestätigt.

Die Krainer und Italiener Rasse wiesen jedoch in bezug auf die untersuchten Merkmale eine so große Übereinstimmung auf, daß GOETZE zu dem Schluß kam: „Die eigentliche *Ligustica* könnte man wohl treffend

¹ Ich benutze die von GOETZE 1940 vorgeschlagene trinäre Benennung.

als die gelbe Ausgabe der *Carnica* bezeichnen, der sie jedenfalls in allen Merkmalen sehr nahesteht“¹.

So wurden diese beiden Rassen praktisch bis heute *nur* nach ihrer *Ausfärbung* unterschieden. Da jedoch die Italiener und Krainer Rasse von großer Bedeutung nicht nur für die europäische Bienenzucht sind, scheint es wichtig, gerade für sie eine *statistisch sichere Unterscheidung* zu ermöglichen.

Es ergibt sich die Frage, ob die bisherigen Schwierigkeiten einer Abgrenzung der beiden Rassen nicht auf die stets gleichförmige Beschränkung auf einige wenige Merkmale und auf eine *Vernachlässigung* der Analyse der *korrelativen Beziehungen* zwischen ihnen zurückzuführen ist. Eine Formanalyse der Italiener und Krainer Rasse müßte also auf der Untersuchung *vieler*, auch bisher noch nicht analysierter Merkmale basieren. Sie erfordert die Anwendung einer genauen Meßtechnik und eine gründliche Auswertung der gewonnenen Maße hinsichtlich ihrer Variabilität und vor allem ihrer *korrelativen Verhältnisse*, da diese erst über den Zusammenhang der Merkmale und ihre Formeigentümlichkeit Kenntnis geben.

Zur Feststellung der Korrelationen schien die von KÜHL 1929 in seiner Arbeit „Die Variabilität der abdominalen Körperanhänge von *Forficula auricularia* L.“ entwickelte *graphische Form- und Korrelationsanalyse* wegen ihrer Anschaulichkeit und der Möglichkeit, mit ihr viele Merkmale gleichzeitig zu untersuchen, besonders geeignet. Mit Hilfe dieser Methode können Korrelationen zwischen vielen Merkmalen graphisch deutlich sichtbar gemacht werden. Da es sich im Laufe der Untersuchung als notwendig erwies, die verschiedenen Grade der korrelativen Beziehungen zu erfassen, mußte die Methode so erweitert werden, daß mit ihr eine Berechnung des *Korrelationsgrades* möglich wurde.

Die Analyse einer Kreuzung zwischen *Apis mellifica carnica* und *Apis mellifica ligustica* sollte über die Manifestation und den Zusammenhang der einzelnen Merkmale weitere Aufschlüsse geben.

Die Messungen wurden stets links und rechts durchgeführt, um an größerem Material festzustellen, ob die von ALBER 1950 für zwei Merkmale nachgewiesene Asymmetrie für die beiden Rassen und die von mir gewählten Merkmale zutrifft.

Herrn Prof. Dr. W. KÜHL danke ich für die Anregung zu dieser Untersuchung, für seinen Rat, seine rege Anteilnahme und großzügige Unterstützung. Frau Prof. GEPPERT sage ich Dank für ihre eingehende Beratung und Prüfung des statistischen Teils der Arbeit. Herrn H. GONTARSKI sei besonders für die Überlassung des Materials und wertvolle Hinweise gedankt. Auch bin ich Herrn Dr. W. SCHWÖBEL für manchen freundlichen Beistand zu Dank verpflichtet.

¹ Siehe GOETZE „Die beste Biene“ 1940, S. 107.

B. Material

Der Untersuchung wurden zugrunde gelegt: 1. 300 Bienen einer Krainer Zuchtlinie des Instituts für Bienenkunde an der Universität Frankfurt in Oberursel, aus einem Volk entnommen, das wegen seiner gleichmäßigen Ausfärbung eine gleichförmige Ausbildung auch anderer Merkmale vermuten ließ.

2. 100 Bienen einer Italiener Zuchtlinie des Instituts für Bienenkunde in Celle, aus einem ebenfalls sehr gleichmäßig ausgefärbten Volk.

3. 100 Bienen aus einer Kreuzung beider Rassen, die ich selbst vorgenommen habe. Eine Krainer Königin, die von einer auf der Inselbelegstelle Hallig Hooge begatteten Zuchtkönigin abstammt, wurde Ende August 1950 nach Biersdorf Kreis Altenkirchen gebracht. Der dortige Bienenstand umfaßte 120 seit langem auf gleichmäßig helle Ausfärbung gezüchtete Italiener Völker. Zu dieser Jahreszeit waren nur hier noch Drohnen vorhanden, in der Umgebung nachweislich keine mehr, so daß eine Begattung nur durch eine Italiener Drohne erfolgen konnte.

Alle Bienen wurden Mitte Juli aus den Völkern entnommen; die von MIKHAILOW 1927 nachgewiesene Saisonvariabilität war somit ausgeschaltet. Die gedeckelten Arbeiterinnenbrutwaben wurden in einen Thermostaten gestellt und die nach einigen Tagen geschlüpften Bienen mit Äther betäubt, in kochendem Wasser fixiert und in 50%igem Alkohol konserviert. Die Probe aus dem Italiener Volk konnte direkt entnommen werden (ohne Schlüpfenlassen im Thermostaten), da das Volk (ein Ausstellungsvolk), als einziges Italiener Volk neben dunklen anderen Völkern stand und eine etwa eingedrungene andersrassige Biene in der Probe sofort bemerkt werden konnte.

C. Beschreibung der Merkmale

I. Bisher an der Biene gemessene Merkmale

Eine Merkmalsanalyse an der Biene wird sich vor allem mit der Form und der Aderbildung des Flügels befassen, da dieser sehr einfach zu untersuchen ist. Daneben fallen die Haken des Hinterflügels sofort ins Auge, die den Hinter- mit dem Vorderflügel verbinden. Die Anzahl dieser Haken wurde schon von KOSCHEVNIKOW 1900, LANDACRE 1901, BACHMETJEW 1910 u. a. an Arbeiterinnen, Drohnen und Königinnen untersucht. Ihre Zahl variiert sehr stark und scheint völlig unabhängig von der Ausbildung anderer Merkmale zu sein.

Länge und Breite des Vorderflügels und die Größe der Strecken $g-h$, $g-f$ und $d-b$ (Abb. 1) wurden von KELLOGG und BELL 1904 gemessen und ihre Variabilität festgestellt. Aus ihren Arbeiten geht hervor, daß die Strecken innerhalb des Flügels erheblich mehr variieren

als die Länge und Breite des ganzen Flügels. Besonders variabel ist die Strecke $g-h$ der 3. Cubitalzelle.

ASHMEAD 1904 wies auf die große Variabilität der Einmündung des *Nervus recurrens* (Abb. 2) in die 3. Cubitalzelle hin. Diese Tatsache wurde von GOETZE bei verschiedenen Rassen eingehend untersucht.

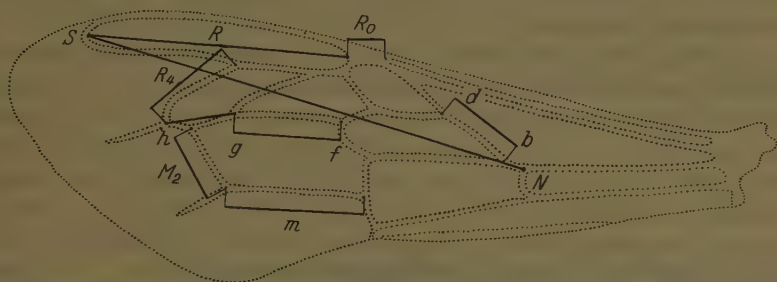


Abb. 1. Schema der von früheren Autoren gemessenen Merkmale des Vorderflügels. KELLOGG und BELL 1904: $h-g$, $g-f$, $d-b$; GOETZE 1930: $S-N$, R ; PHILLIPS und CASTEEL 1904, 1905, 1927: m , M_2 , R_4 , R_0

Er maß und berechnete das Verhältnis der Strecken $a:b$ (Abb. 2) und stellte fest, daß dieser Index, der sogenannte Cubitalindex, bei der Deutschen Rasse kleiner ist als bei der Krainer und Italiener Rasse. Die Strecke b ist bei der Deutschen Biene länger und bewirkt dadurch einen kleineren Index (zwischen 1 und 2), während der der Krainer und Italiener Biene stets über 2 liegt.

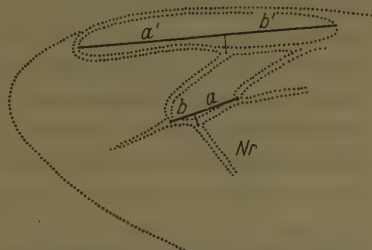


Abb. 2. Schema des von GOETZE gemessenen Cubitalindex $a:b$ und Radialindex $a':b'$. Nr Nervus recurrens

Als Ausdruck für die Länge des Flügels wählte GOETZE die Strecken $S-N$ und R (Abb. 1). Er maß nicht, wie KELLOGG und BELL, den Flügel in seiner längsten Ausdehnung, da das von Adern nicht durchzogene Ende des Flügels leicht Falten bildet und somit für eine Messung nicht geeignet ist. Daneben errechnete er das Verhältnis der Strecken $a':b'$ (Abb. 2) in der Radialzelle, um von der Flügelgröße unabhängige Verhältniszahlen zu bekommen. Je größer dieser sogenannte Radialindex ist, desto größer ist die Strecke a' im Verhältnis zu b' und desto weiter steht die Radialzelle mit ihrem freien, nicht von Adern gestützten Teil über. GOETZE stellte fest, daß die Deutsche Rasse einen wesentlich kleineren Radialindex aufweist als die Krainer und Italiener Rasse, (der freie Anteil der Radialzelle bei diesen beiden Rassen also größer ist). „Nahe zusammen gehört die *Ligustica* aber auch hiernach mit der *Carnica*, doch hat letztere, und zwar ziemlich regelmäßig, einen weiteren Cubital-

index“ (GOETZE 1940). Auch das Vorhandensein oder Fehlen des Radialaderstummels am Hinterflügel beschreibt GOETZE bei verschiedenen Rassen.

Neben den bis jetzt angeführten Merkmalen des Flügels wurden von PHILLIPS und CASTELL (1904, 1905, 1927) vor allem 4 Strecken gemessen: m , M_2 , R_4 , und R_0 (Abb. 1) und deren Variabilität bei Drohnen und Arbeiterinnen verglichen.

Die *Rüssellänge* der Biene, die ihre Honigleistung entscheidend beeinflusst, ist seit 1916 immer wieder untersucht worden. Es ist jedoch schwierig, die Länge des Gesamtrüssels direkt zu messen, da *Mentum* und *Submentum* in einem Winkel zueinander stehen. CHOCHLOW (1916), der als erster exakte Messungen des Rüssels durchführte, maß daher *Submentum*, *Mentum* und *Glossa* getrennt und summierte die einzelnen Maße zur Gesamtrüssellänge. Diese Methode wandten ebenfalls ALPATOW (1925, 1929), MIKHAILOW (1926) und SKORIKOW (1930) an. ALPATOW stellte neben der bereits erwähnten gesetzmäßigen Beziehung zwischen geographischer Breite und Rüssellänge fest, daß die einzelnen Teile des Rüssels stärker variieren als seine Gesamtlänge, wie das für den Flügel durch KELLOGG und BELL bereits bekannt war.

FARCAS (1939) kritisierte die bisher durchgeführten Messungen der *Glossa*. Da sie aus vielen einzelnen Chitinringen besteht, die durch Chitinhäutchen miteinander verbunden sind, hängt ihre Länge davon ab, wie weit der Rüssel von der Biene im Augenblick des Todes ausgestreckt wird. Eine Längenmessung kann also niemals genau sein. FARCAS suchte die Rüssellänge auf indirektem Wege durch die Größe von Merkmalen, die mit dem Rüssel korrelieren, zu bestimmen. Auf Grund seiner Untersuchungen bezeichnet er das *Mentum* als wenig variierendes, jedoch mit der Rüssellänge stark korrelierendes Merkmal und stellt eine Formel auf, die es gestattet, aus den Längenmaßen des *Mentum* die Gesamtrüssellänge zu berechnen. Auch von GOETZE wurde 1930 eine indirekte Bestimmung der Rüssellänge durch Messung des 2. Labialtastergliedes vorgeschlagen. K. MÜLLER wies 1938 an größerem Material eine hohe positive Korrelation zwischen den beiden Merkmalen nach und bestätigte die von GOETZE aufgestellte Berechnungsformel.

Ebenso wie ein langer Rüssel bewirkt ein schmaler, langer Kopf ein besseres Eindringen in den Blütenkelch. Eine Analyse der Form des Kopfes ist also neben der Rüsselmessung von Wichtigkeit für die Bienenzüchtung. Eine Längenmessung des Kopfes ist praktisch nicht durchführbar, da die vielen Chitinhaare gerade am oberen Rande des Kopfes und der nur schwer abzugrenzende untere Rand eine Bestimmung der Länge sehr erschweren. Auch das Messen der *Breite des Kopfes* ist mit Schwierigkeiten verbunden, wurde jedoch von GOETZE (1930) mit Hilfe eines Tastapparates durchgeführt (s. S. 279). Daneben gab er einige

Kopfmaße an, die, zu Indizes zusammengestellt, bestimmte Kopfformen kennzeichnen sollten. Diese Maße sind wegen der starken Behaarung nur an „rasierten“ Köpfen zu gewinnen. Ich bezeichne sie deshalb hier nicht näher.

Der Metatarsus des 3. Beinpaares, der durch Borstenreihen, den Sporn und das „Körbchen“ zur Pollensammlung besonders ausgebildet ist, wurde in der Hauptsache von GOETZE (1930) in seiner Längen- und Breitenausbildung gemessen. Aus seinen Untersuchungen schließt er, daß die Deutsche Biene sehr schmale und lange, die Krainer und Italiener

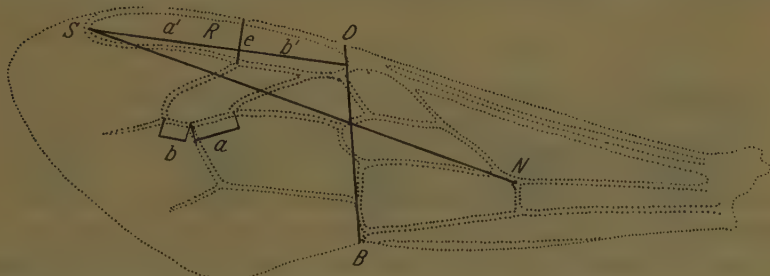


Abb. 3. Schema der in vorliegender Untersuchung gemessenen Merkmale des Vorderflügels. $S-N$ Flügelänge; $B-D$ Flügelbreite; R Länge der Radialzelle; e Breite der Radialzelle; a', b' Einzelstrecken des Radialindex $a':b'$; a, b Einzelstrecken des Cubitalindex $a:b$

Biene dagegen kürzere und breitere Metatarsen (Fersen) aufweisen. ALPATOW bestimmte im Zusammenhang mit seinen Rüsselmessungen die Breite der Ferse bei russischen Rassen verschiedener geographischer Breite und stellte fest, daß sie ebenfalls nach Süden zunimmt. Außerdem wurden von PHILLIPS und CASTEEL die Länge des 1. Tarsalgliedes der 3 Beinpaare gemessen und eine positive Korrelation zwischen ihnen nachgewiesen.

Am Abdomen wurden bisher nur wenige Messungen durchgeführt. Hier ist ebenfalls in der Hauptsache GOETZE zu erwähnen, der den unteren Rand des Wachsspiegels des 5. Sternit bei der Deutschen Rasse gerade, bei der Krainer und Italiener Rasse dagegen gebogen ausgebildet fand. Er unterschied die Rassen außerdem nach der Länge der Chitinbehaarung des 5. Tergit, die bei der Deutschen Biene sehr lang, bei der Krainer und Italiener Biene wesentlich kürzer ist. Daneben beschrieb er die Dichte der Filzbinden auf den einzelnen Tergiten bei verschiedenen Rassen.

II. Die für die vorliegende Untersuchung verwandten Merkmale

Am Flügel wurden folgende Merkmale gewählt: Als Maß für die Flügelänge die Strecke $S-N$ (Abb. 3). Dazu die Flügelbreite $B-D$ (Abb. 3). Beide Merkmale erstrecken sich über den von Adern gestützten Teil des Flügels und können daher exakt gemessen werden.

Zur Bestimmung der *Radialzelle*, die durch ihre Größe und ihre Lage an der Vorderkante des Flügels für seinen Bau große Bedeutung hat, wurde die *Länge* R der Zelle, die Strecken a' und b' , die *Breite* e und der *Flächen-*

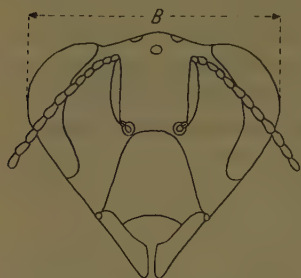


Abb. 4. Schema der Merkmale des Kopfes. B Kopfbreite; L Länge des 2. Labialtastergliedes

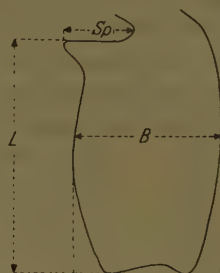


Abb. 5. Schema der Fersenmerkmale. L Länge der Ferse; B Breite der Ferse; Sp Länge des Sporns

inhalt der Zelle gemessen. Außerdem wurde der *Radialindex* $a':b'$, der das Verhältnis der beiden Strecken zueinander ausdrückt, berechnet.

Um nachzuprüfen, ob der *Cubitalindex* $a:b$ bei den beiden Rassen wirklich nur wenig verschieden ist und welcher korrelative Zusammen-

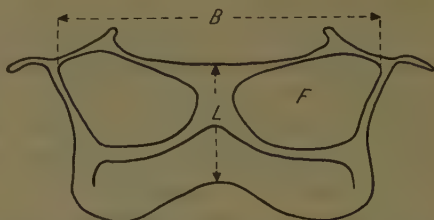
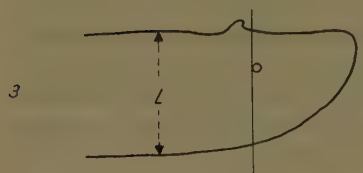
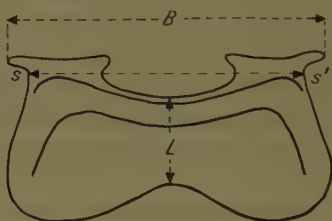
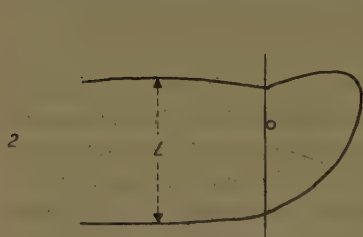


Abb. 6. Schema der Merkmale des Abdomen. Links: 2 L Länge des 2. Tergit; 3 L Länge des 3. Tergit; senkrechte Linie am Stigma = Schnittlinie (näheres im Text); rechts: 2 L Länge des 2. Sternit; 2 B Breite des 2. Sternit; $s-s'$ verkürzte Breite des 2. Sternit; 3 L Länge des 3. Sternit; 3 B Breite des 3. Sternit; 3 F Flächeninhalt des 3. Wachspiegels

hang zwischen der 3. Cubitalzelle und anderen Merkmalen besteht, wurden die Strecken a und b gemessen (Abb. 3) und aus den Maßen der Index berechnet. Daneben wurde auch für diese Zelle der *Flächeninhalt*

bestimmt, um zu untersuchen, ob die Variabilität der Adern die Größe der Zelle beeinflusst.

Am Hinterflügel wurde die *Anzahl der Haken* festgestellt.

Am *Kopf* wurde seine größte *Breite* und die *Länge* des 2. *Labialtastergliedes* gemessen (Abb. 4). Die von GOETZE und MÜLLER nachgewiesene Korrelation zwischen 2. Labialtasterglied und der Rüssellänge wurde als richtig vorausgesetzt.

Vom *Metatarsus* des 3. Beinpaars wurden *Länge* und *Breite* bestimmt und außerdem die *Länge des Sporns* gemessen (Abb. 5).



Abb. 7. Schema der Ausfärbung des Abdomen der Kreuzung. Einteilung der Ausfärbung in 10 Klassen

Da die Segmente des *Abdomen* teleskopartig ineinanderschiebbar sind, kann man die Gesamtlänge des Hinterleibes nicht genau bestimmen. Es wurden deshalb Maße des 2. und 3. Segmentes gewählt, da diese, als die längsten und breitesten, wohl in der Hauptsache die Größe des Abdomen bestimmen. Es wurden die *Breite und Länge* des 2. Sternit (Abb. 6) und die *Breite, Länge* und der *Flächeninhalt* des 3. Sternit gemessen; dazu die *Länge* des 2. und 3. Tergit.

(Bei der Italiener Rasse und der Kreuzung wurden neben der größten Breite des 2. Sternit die Strecke $s-s'$ gemessen und deren Maße auch für die Berechnung der Korrelationen benutzt. Die Mittelwerte dagegen wurden für alle drei Gruppen aus den Messungen der größten Breite errechnet, um sie vergleichbar zu machen).

Die Ausfärbung des 2. und 3. Tergit wurde für jedes Tier gezeichnet. Sie erwies sich jedoch bei den Krainer und Italiener Bienen als derart

gleichmäßig, daß eine Aufstellung von Klassen und damit eine Auswertung in biometrischer Hinsicht nicht sinnvoll erschien. Dagegen variierte bei der *Kreuzung die Ausfärbung des ganzen Abdomen* erheblich. Sie wies alle Übergänge von extrem heller zu einheitlich dunkler Färbung auf. Für sie wurden 10 Klassen aufgestellt (Abb. 7).

1. Bis auf 6. Tergit hell. Am Hinterrand jedes Tergit ein schmaler dunkler Streifen.

2. Tergit 4, 5 und 6 dunkel, am Hinterrand von 2. und 3. Tergit ein schmaler dunkler Streifen.

3. Wie 2. Am Hinterrand des 3. Tergit ein breiterer dunkler Streifen.

4. Wie 2. Am Hinterrand des 2. und 3. Tergit ein breiterer dunkler Streifen.

5. Wie 2. 2. und 3. Tergit bis zur Hälfte ausgefärbt.

6. Wie 5. 3. Tergit mehr als die Hälfte ausgefärbt.

7. Wie 5. 2. und 3. Tergit mehr als die Hälfte ausgefärbt.

8. Helle Ecken an 2. und 3. Tergit.

9. Nur am 2. Tergit helle Ecken.

10. Tief dunkel.

D. Meßmethode

Bei fast allen früheren Untersuchungen wurden die Merkmale mit einem Okularmikrometer oder unter Zuhilfenahme des ABBESchen Zeichenapparates gemessen. Bei der großen Zahl der für diese Arbeit erforderlichen Messungen wäre jedoch eine ständige Beobachtung im Mikroskop zu ermüdend gewesen. Auch die Handhabung des ABBESchen Zeichenapparates ist auf die Dauer viel zu umständlich. Als besonders einfache, schnelle und doch exakte Methode erwies sich die Projektion der entsprechenden Körperteile der Biene im dunklen Raum auf eine horizontale Tischplatte. Mit einem durchsichtigen Millimetermaßstab konnte die Größe der Merkmale sehr bequem gemessen werden. Der „Tubusträger des Panphot“ von LEITZ, dessen Tisch verschiebbar und umkehrbar ist, wurde umgekehrt an einem Stativ befestigt, und zwar in der Höhe, daß sich eine *40fache Vergrößerung* des Objektes ergab. Der Tisch wurde umgewendet, so daß die Objekte bequem aufgelegt werden konnten. Mit Hilfe einer über dem Mikroskop angebrachten Monlalampe wurden die Merkmale auf den mit weißem Papier bespannten Tisch projiziert. Benutzt wurde das Objektiv Milar 6,5 mm und das Okular 10 mal (E. LEITZ).

Flügel, Ferse, Kopf, Labialtaster und die Segmente des Abdomen wurden mit einer spitzen Pinzette vorsichtig vom Körper abgelöst und in 50%igem Alkohol auf den Objektträger übertragen.

Zur Kopfmessung ist folgendes zu sagen: GOETZE (1930) maß die größte Kopfbreite mit einem Tastapparat nach KOHL mit einer Genauig-

keit von 0,01 mm. Die Spitzen des beweglichen und unbeweglichen Tasters waren vorne derart abgeschnitten, daß eine Fläche von etwa 1 mm Durchmesser entstand. Er setzte die Spitzen an den „am weitesten voneinander entfernten Punkten auf der Augenoberfläche“ an. Mit einem über dem Tastapparat angebrachten Binokular wurden die Messungen kontrolliert.

Kopfmessungen, die von mir mit dem im Prinzip gleichen Tastapparat „IKA-Feintaster“ unter einem Binokular durchgeführt wurden, ergaben, daß eine *Tastermessung zu sehr ungenauen Meßdaten* führt. Es ist wegen der Chitin-Behaarung des Kopfes sehr schwierig zu entscheiden, wann die Spitzen des Tasters wirklich den Kopf berühren, da die Chitinhaare sich unter dem Druck der Spitzen umbiegen und sich zwischen Taster und Kopf legen. Durch zu großen Druck wird aber bereits die Kopfkapsel deformiert.

Diese Schwierigkeit kann folgendermaßen umgangen werden: Wird der Kopf in 50%igem Alkohol projiziert, so hebt sich die Kopfkapsel im Bild trotz der Chitinhaare sehr klar als Silhouette ab, so daß ihre größte Breite leicht mit einem durchsichtigen Millimetermaßstab gemessen werden kann (Abb. 8).

Auf einem Objektträger aus Plexiglas, durch den die Spitze einer dünnen Insektennadel so gebohrt wurde, daß sie etwa 1 mm über die Oberfläche emporragte, wurde der Kopf derart befestigt, daß er mit der Fläche des Hinterkopfes gerade auflag. Eine Wanne aus Plexiglasstücken um den Stift von etwa 10 mm Durchmesser ermöglichte, den Kopf in Alkohol einzudecken.

Der Cubitalindex $a:b$ wurde von GOETZE mit einem Meßwinkel mit Hilfe des ABBESchen Zeichenapparates direkt gemessen, um das umständliche Messen der einzelnen Strecken und ein nachträgliches Berechnen des Index zu vermeiden. ALBER und DREHER (beide 1950) stellten jedoch fest, daß durch die Projektion der beiden Strecken auf den Meßwinkel nicht ihr wirkliches Verhältnis zueinander erfaßt wird, da der Winkel, den sie miteinander bilden, nicht berücksichtigt werden kann. Dadurch treten Verzerrungen auf, die zu großen Ungenauigkeiten führen. Der Index kann nur genau sein, wenn er aus den Maßen der einzelnen Strecken a und b errechnet wird, wie es hier durchgeführt wurde.



Abb. 8. Schema der Messung des projizierten Kopfes. Meßskala durchsichtig. 1 Teilstrich = 1 mm. Kopfgröße und Maßstab sind im Schema in verschiedenem Maßstab vergrößert bzw. verkleinert

Der *Flächeninhalt der Cubital- und Radialzelle und der Wachsspiegel* des 3. Sternit wurde folgendermaßen ermittelt: während der Projektion wurde der Umfang der Zellen und Wachsspiegel nachgezeichnet, und, nachdem alle Messungen durchgeführt waren, ihr Flächeninhalt mit einem „Ott-Planimeter“ gemessen. Jede Zelle wurde, wie es üblich ist, 3mal umfahren, um Fehler möglichst auszuschalten.

Zur Messung der größten Länge und Breite der Ferse mußte ein besonderes Hilfsmittel benutzt werden. Vor allem die Breite läßt sich wegen der Form der Ferse nur schwer ermitteln. Wenn man ein Rechteck aus Plexiglasstücken so anlegt, wie es die Hilfslinien der Abb. 5 zeigen, dann kann man, wiederum durch Anlegen des Millimetermaßes an das Rechteck, jeweils Länge oder Breite ablesen.

Die Tergite wurden wegen ihrer Wölbung an den Seiten abgeschnitten leicht mit dem Deckglas gepresst und dann ihre größte Längenausdehnung gemessen.

Die Ausfärbung der beiden Tergite wurde während der Projektion skizziert. Dagegen wurde die Ausfärbung des ganzen Abdomen bei der Kreuzung vor dem Ablösen der Tergite untersucht; die einzelnen Segmente wurden dabei vorsichtig auseinandergezogen. Die gemessenen Größenwerte der Merkmale wurden für jedes Tier auf ein besonderes Merkmalskärtchen eingetragen.

E. Auswertung der gewonnenen Maße

I. Die Variabilität der Merkmale

Die Variabilität eines Merkmals wird hauptsächlich durch die Berechnung von Mittelwert und mittlerer Abweichung (Standardabweichung) nach PEARSON, als Maß der Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert, gekennzeichnet.

Der Wert σ der Standardabweichung wird zumeist in Zusammenhang mit dem zugehörigen Mittelwert betrachtet. Je nach der Größe des Mittelwertes kann der Grad des Streuungsmaßes etwas sehr Verschiedenes bedeuten. Um den „Variabilitätsgrad“ *mehrerer Merkmale* miteinander vergleichen zu können, berechnet man den Variabilitätskoeffizienten V , der das prozentuale Verhältnis der durchschnittlichen Abweichung zum Mittelwert ausdrückt. Er ist ein relatives Maß für die Streuung.

In der Tabelle 1 werden neben dem Mittelwert M , dem Fehler des Mittelwertes m und der Streuung σ die Extremwerte für jedes Merkmal angegeben. Durch sie wird die „Variationsbreite“ des Merkmals bezeichnet. Diese ist jedoch nur von geringem Wert, da sie nichts über die *Verteilung der Einzelwerte* innerhalb der Extremwerte aussagt. σ und

damit auch V als Ausdruck der durchschnittlichen Abweichung geben ein viel besseres Bild der Variabilität und berücksichtigen die *Extremwerte* durch die Quadrierung in besonderer Weise.

Die Werte wurden aus je 100 Maßen errechnet. Sie werden für die beiden Rassen und die Kreuzung in je einer Tabelle gesondert angegeben. Der Berechnung wurden die Maße der Merkmale der linken Seite zugrunde gelegt.

1. Tabellen der Mittelwerte, Extremwerte und der Streuung

Tabelle 1

Merkmal	M mm bzw. mm ²	m	σ + —	Extremwerte mm
<i>Krainer Rasse</i>				
Flügelänge	5,800	0,009	0,090	5,520—6,000
Flügelbreite	2,510	0,003	0,033	2,400—2,650
Länge der Radialzelle	3,328	0,006	0,060	3,170—3,450
Breite der Radialzelle	0,595	0,001	0,015	0,555—0,635
a'	2,015	0,006	0,059	1,875—2,125
b'	1,324	0,004	0,040	1,215—1,415
$a':b'$	1,524	0,008	0,080	1,336—1,740
Radialzelle, } Flächeninhalt	1,320	0,004	0,040	1,202—1,414
a	0,579	0,004	0,043	0,460—0,680
b	0,228	0,002	0,018	0,180—0,285
$a:b$	2,518	0,030	0,262	1,900—3,400
Cubitalzelle, } Flächeninhalt	0,505	0,003	0,028	0,439—0,561
Flügelhaken	20,170	0,146	1,460	16—25
Kopfbreite	3,938	0,006	0,060	3,750—4,050
Labialtaster	0,607	0,002	0,017	0,560—0,650
Ferslänge	2,179	0,004	0,040	2,065—2,250
Fersbreite	1,242	0,002	0,021	1,195—1,310
Sporn	0,603	0,001	0,015	0,560—0,645
Sternit 2, Länge	1,460	0,004	0,041	1,335—1,550
Sternit 2, Breite	4,215	0,012	0,119	3,950—4,550
Tergit 2	2,597	0,006	0,060	2,450—2,775
Sternit 3, Länge	1,861	0,004	0,043	1,750—1,990
Sternit 3, Breite	5,149	0,012	0,116	4,875—5,455
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	2,627	0,013	0,130	2,289—2,976
Tergit 3	2,345	0,005	0,050	2,200—2,475
<i>Italiener Rasse</i>				
Flügelänge	5,809	0,008	0,076	5,490—5,935
Flügelbreite	2,331	0,003	0,03	2,220—2,390
Länge der Radialzelle	3,307	0,006	0,059	3,050—3,405
Breite der Radialzelle	0,527	0,001	0,012	0,495—0,565
a'	2,089	0,008	0,076	1,680—2,200
b'	1,222	0,004	0,039	1,090—1,375
$a':b'$	1,716	0,01	0,103	1,222—1,982

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Merkmal	M mm bzw. mm ²	m	σ + —	Extremwerte mm
Radialzelle, } Flächeninhalt	1,136	0,003	0,028	1,048—1,231
a	0,618	0,004	0,037	0,525—0,715
b	0,222	0,002	0,02	0,165—0,260
a:b	2,830	0,034	0,346	2,115—4,061
Cubitalzelle, } Flächeninhalt	0,517	0,002	0,02	0,444—0,568
Flügelhaken	22,18	0,143	1,43	17—26
Kopfbreite	3,856	0,003	0,03	3,750—3,950
Labialtaster	0,591	0,002	0,016	0,550—0,635
Fersenlänge	2,069	0,004	0,041	1,935—2,150
Fersenbreite	1,210	0,002	0,024	1,145—1,275
Sporn	0,596	0,001	0,014	0,550—0,625
Sternit 2, Länge	1,478	0,004	0,038	1,375—1,565
Sternit 2, Breite	4,234	0,01	0,106	3,875—4,575
Tergit 2	2,505	0,005	0,048	2,375—2,625
Sternit 3, Länge	1,773	0,004	0,036	1,670—1,830
Sternit 3, Breite	5,079	0,009	0,086	4,904—5,305
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	2,378	0,009	0,089	2,151—2,597
Tergit 3	2,282	0,003	0,035	2,195—2,350
<i>Kreuzung</i>				
Flügelänge	5,820	0,007	0,074	5,600—6,035
Flügelbreite	2,375	0,004	0,044	2,280—2,510
Länge der Radialzelle	3,335	0,007	0,069	3,145—3,485
Breite der Radialzelle	0,566	0,002	0,018	0,515—0,615
a'	2,024	0,007	0,071	1,845—2,200
b'	1,311	0,005	0,049	1,180—1,435
a':b'	1,551	0,009	0,093	1,382—1,801
Radialzelle, } Flächeninhalt	1,254	0,005	0,055	1,120—1,381
a	0,559	0,004	0,04	0,440—0,660
b	0,266	0,003	0,028	0,190—0,335
a:b	2,154	0,034	0,34	1,419—3,474
Cubitalzelle, } Flächeninhalt	0,499	0,003	0,029	0,431—0,583
Flügelhaken	20,46	0,163	1,63	16—24
Kopfbreite	3,904	0,006	0,059	3,750—4,050
Labialtaster	0,609	0,002	0,02	0,550—0,650
Fersenlänge	2,089	0,005	0,047	1,965—2,200
Fersenbreite	1,183	0,003	0,033	1,100—1,250
Sporn	0,593	0,002	0,022	0,540—0,635
Sternit 2, Länge	1,479	0,005	0,047	1,350—1,590
Sternit 2, Breite	4,120	0,013	0,135	3,910—4,475
Tergit 2	2,541	0,004	0,045	2,425—2,645
Sternit 3, Länge	1,785	0,005	0,052	1,650—1,905
Sternit 3, Breite	5,121	0,012	0,124	4,810—5,450
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	2,434	0,014	0,137	2,085—2,741
Tergit 3	2,294	0,004	0,044	2,135—2,380

2. Gegenüberstellung der Krainer und Italiener Rasse auf Grund von Mittelwert und Streuung. Ein Vergleich zweier Mittelwerte, der nur die beiden errechneten Zahlen gegenüberstellt, läßt noch nicht den Schluß zu, daß die Unterschiedlichkeit der Werte nicht nur zufällig ist. Zur Beurteilung, ob die Differenzen der einzelnen Mittelwerte statistisch gesichert sind oder nicht, vergleicht man, wenn die Häufigkeitsverteilung der betreffenden Merkmale einer Normalverteilung gleichkommt, die Differenz der Mittelwerte D mit dem Fehler der Differenz σD . $\sigma D = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n} + \frac{\sigma_2^2}{n}}$. Man berechnet $\frac{D}{\sigma D} = t$. Für die jeweiligen t -Werte gibt die Student-Verteilung für die verschiedensten Freiheitsgrade die Signifikanz Pt an; $Pt = 0,01$ z. B. bedeutet, daß die Wahrscheinlichkeit dafür, daß trotz Übereinstimmung der Ausgangsgesamtheiten die beiden Stichprobenmittelwerte so stark oder noch stärker differieren wie in der

Tabelle 2

Merkmal	Krainer		Italiener		D	σD	$t = \frac{D}{\sigma D}$	Pt
	M mm bzw. mm ²	σ	M mm bzw. mm ²	σ				
Flügelbreite	2,510	0,033	2,331	0,03	0,179	0,0042	44,75	< 0,001
Radialzelle, } Flächeninhalt	1,320	0,04	1,136	0,028	0,184	0,005	36,8	< 0,001
Breite der } Radialzelle	0,595	0,015	0,527	0,012	0,068	0,002	34	< 0,001
Fersenslänge . .	2,179	0,04	2,069	0,041	0,110	0,0057	19,29	< 0,001
b'	1,324	0,04	1,222	0,039	0,102	0,0057	17,89	< 0,001
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	2,627	0,13	2,378	0,089	0,249	0,0157	15,85	< 0,001
Sternit 3, Länge	1,861	0,043	1,773	0,036	0,088	0,0057	15,43	< 0,001
$a':b'$	1,524	0,08	1,716	0,103	0,192	0,013	14,76	< 0,001
Kopfbreite . .	3,938	0,06	3,856	0,03	0,082	0,0067	12,23	< 0,001
Tergit 2	2,597	0,06	2,505	0,048	0,092	0,0077	11,94	< 0,001
Tergit 3	2,345	0,05	2,282	0,035	0,063	0,006	10,5	< 0,001
Fersensbreite . .	1,242	0,021	1,210	0,024	0,032	0,003	10,66	< 0,001
Flügelhaken . .	20,17	1,46	22,18	1,43	2,01	0,204	9,85	< 0,001
a'	2,015	0,059	2,089	0,076	0,074	0,0097	7,63	< 0,001
$a:b$	2,518	0,262	2,830	0,346	0,312	0,0433	7,2	< 0,001
a	0,579	0,043	0,618	0,037	0,039	0,0057	6,84	< 0,001
Labialtaster . .	0,607	0,017	0,591	0,016	0,016	0,0023	6,95	< 0,001
Sternit 3, Breite	5,149	0,116	5,079	0,086	0,07	0,0143	4,89	< 0,001
Cubitalzelle, } Flächeninhalt	0,505	0,028	0,517	0,02	0,012	0,0033	3,64	< 0,001
Sporn	0,603	0,015	0,596	0,014	0,007	0,002	3,5	< 0,001
Sternit 2, Länge	1,460	0,041	1,478	0,038	0,018	0,0057	3,15	0,0027
Länge der } Radialzelle	3,328	0,06	3,307	0,059	0,021	0,0083	2,53	0,02
b	0,228	0,018	0,222	0,02	0,006	0,0027	2,22	0,05
Sternit 2, Breite	4,215	0,119	4,234	0,106	0,019	0,016	1,18	0,3
Flügelänge . .	5,800	0,06	5,809	0,076	0,009	0,0097	0,93	0,4

Beobachtung, nur 0,01 beträgt. Übereinkunftsgemäß nimmt man bei der Signifikanz $Pt = 0,0027$ und $Pt = < 0,0027$ an, daß die Differenz der beiden zu vergleichenden Mittelwerte nicht zufällig, sondern „echt“ ist.

Da eine Prüfung der Häufigkeitsverteilungen aller hier verwandten Merkmale durch Einzeichnen ihrer Summenkurve in das Wahrscheinlichkeitsnetz ergab, daß die Verteilung der Merkmale angenähert der Normalverteilung entspricht, ist die Anwendung der obigen Formeln zum Zwecke des Vergleichs der Mittelwerte der Merkmale bei den verschiedenen Rassen berechtigt.

In der Tabelle 2 werden die Mittelwerte aller Merkmale der Krainer und Italiener Rasse angegeben, dazu die Streuung σ , die Differenz der Mittelwerte D , der Fehler der Differenz σD , der Wert $\frac{D}{\sigma D} = t$



Abb. 9. Die beiden für die Krainer und Italiener Rasse typischen Flügel. Ausgezogene Linie = Krainer Flügel; punktierte Linie = Italiener Flügel. Nur Cubital- und Radialzelle eingezeichnet

und in der letzten Spalte der Wert Pt , der die Signifikanz bedeutet. Zur besseren Übersicht sind in der Tabelle die Merkmale der Krainer und Italiener Rasse von der größten bis zur kleinsten Differenz der Mittelwerte angeordnet.

Bereits ein flüchtiger Überblick über die Tabelle läßt erkennen, daß die durchschnittlichen Maße der Italiener Rasse kleiner sind als die der Krainer, mit Ausnahme der Merkmale der Cubitalzelle, einiger Merkmale der Radialzelle und der Flügelhaken.

Bei Zugrundelegung des ungefähren Signifikanzniveaus von 0,0027 erweisen sich nur die Länge des Flügels, die Länge der Radialzelle, b und die Breite des 2. Sternit als statistisch nicht sicher unterscheidbar.

Die Anordnung der Tabelle zeigt ferner, daß die größte Verschiedenheit zwischen den beiden Rassen in der Breite des Flügels besteht.

Der Flügel der Italiener Bienen ist zwar gleich lang, aber wesentlich schmaler als der der Krainer. Ebenso verhält sich die Radialzelle, die bei beiden Rassen gleich lang, aber bei der Italiener Biene sehr viel

schmäler ausgebildet ist und dadurch einen wesentlich geringeren Flächeninhalt aufweist (Abb. 9).

Auch im Anteil der Strecken a' und b' an der Radiallänge sind die beiden Rassen sehr unterschiedlich. Bei der Italiener Biene ist a' größer, b' dagegen wesentlich kleiner als bei der Krainer. Dadurch wird der Wert des Radialindex $a':b'$, der das Verhältnis der beiden Strecken zueinander ausdrückt, bei der Italiener Biene erheblich größer als bei der Krainer: 1,716:1,524. Der freie, nicht durch Queradern gestützte Teil der Radialzelle ist also bei der Italiener Rasse länger, die Cubitalzelle liegt mehr in der Mitte des Flügels als bei der Krainer Rasse. Eine Darstellung der beiden typischen Flügel verdeutlicht dies (Abb. 9).



Abb. 10. Die Größenunterschiede der Ferse der Krainer und Italiener Rasse. Ausgezogene Linie = Krainer Ferse; punktierte Linie = Italiener Ferse



Abb. 11. Größenunterschiede der für Krainer und Italiener Rasse typischen Köpfe. Ausgezogene Linie = Krainer Kopf; punktierte Linie = Italiener Kopf

Der höhere *Cubitalindex* der Italiener Biene wird durch den höheren Durchschnittswert der Strecke a bei ihr bewirkt. Der Aderabschnitt b dagegen ist bei beiden Rassen gleich groß ausgebildet. Auch der *Flächeninhalt* der Cubitalzelle ist bei der Italiener Biene größer, der Unterschied ist statistisch gesichert. Obwohl also der Flügel gleich lang und erheblich schmäler ist als der der Krainer Biene, ist die 3. Cubitalzelle größer. Die Anzahl der Haken des Hinterflügels ist ebenfalls größer als die der Krainer.

Neben den Merkmalen des Flügels sind es vor allem die Maße der *Ferse*, die bei den beiden Rassen verschieden groß sind. Die Ferse der Italiener Biene ist viel kleiner und schmäler als die der Krainer; auch der Sporn ist kürzer (Abb. 10).

Der *Kopf* der Italiener Biene ist ebenfalls schmäler und die Labialtaster sind nicht so lang wie die der Krainer (Abb. 11).

Bei den Merkmalen des Abdomen sind 2. und 3. *Tergit* und der 3. Sternit den anderen Merkmalsgruppen entsprechend bei der Italiener Rasse kleiner und schmäler. Nur der 2. Sternit bildet eine Ausnahme: er ist bei der Italiener Biene länger, aber ebenso breit wie der der Krainer.

Allein durch einen *Vergleich der Mittelwerte* der gemessenen Merkmale kann man also einen *deutlichen Größen- und Formunterschied* zwischen den beiden Rassen *Apis mellifica carnica* und *ligustica* feststellen.

Die Werte für Kopfbreite, Fersenzlänge und -breite entsprechen nicht ganz den von GOETZE (1930) ermittelten. In der folgenden Tabelle werden die von GOETZE angegebenen Mittelwerte zum Vergleich in Klammern angegeben.

Bei GOETZE zeigt die Italiener Rasse für alle 3 Merkmale höhere Werte als die Krainer Rasse. Da dieser Autor jedoch nicht angibt, aus einer wie großen Anzahl von Messungen er die Durchschnittswerte errechnet hat, und sowohl die Streuungsmaße als auch die statistische Sicherung der Werte fehlen, und außerdem die

Tabelle 3

Merkmale	Krainer	Italiener
Kopfbreite . .	3,94 (3,81)	3,85 (3,84)
Fersenzbreite . .	1,24 (1,24)	1,21 (1,26)
Fersenzlänge . .	2,18 (2,08)	2,07 (2,15)

Technik der Kopfmessung anfechtbar ist, ist ein Vergleich nur schwer möglich. Es ist jedoch auf Grund der hier für nahezu alle Merkmale festgestellten geringeren Größe der Italiener Biene anzunehmen, daß dies auch für die Kopfbreite und Fersenzgröße zutrifft.

Die Cubitalindizes der beiden in der vorliegenden Arbeit untersuchten Rassen weisen ebenfalls verschiedene Werte auf. Vor allem der Index der Italiener Biene ist, im Gegensatz zu GOETZES Angaben, höher als der der Krainer. Die Werte für den Radialindex stimmen jedoch mit den von ihm errechneten in etwa überein.

Radialindex $a':b'$

	GOETZE
Krainer	1,524 (1,55)
Italiener	1,716 (1,79)

Diese Indizes gibt GOETZE im Zusammenhang mit anderen an, betrachtet aber nur die Differenz zwischen Krainer und Deutscher Rasse genauer, denn er folgert, obwohl der Unterschied zwischen dem Radialindex der Krainer und Italiener Rasse ebenso groß ist, wie der zwischen Krainer und Deutscher Biene, daß ihr gegenüber auch nach der Größe des Radialindex die Krainer und Italiener Rasse „nahe zusammengehören“.

Aus der geringeren Größe des 2. Labialtastergliedes bei der Italiener Rasse läßt sich ableiten, daß auch ihr Rüssel kürzer ist als der der Krainer Rasse. Dies stimmt mit den Ergebnissen GOETZES in bezug auf die Rüssellänge: „Die Italiener Bienen sind den Krainern nicht ganz ebenbürtig“ überein.

Zu einer Unterscheidung der beiden Rassen auf Grund der Mittelwerte kann man nach den vorliegenden Ergebnissen viele Merkmale heranziehen, doch erscheinen mir vor allem die *Flügelbreite*, die *Breite der Radialzelle* und das Verhältnis zwischen den Strecken a' und b' dazu geeignet zu sein. Die Werte dieser Merkmale weisen eine sehr große Differenz auf; sie zeigen nicht nur einen Größen- sondern auch einen charakteristischen Formunterschied auf und sind sehr leicht zu untersuchen, da es ausschließlich Merkmale des Flügels sind. Außerdem ist die Flügelbreite, wie aus der Berechnung des Variabilitätskoeffizienten hervorgeht (S. 289), ein sehr wenig variierendes Merkmal, was für eine statistische Analyse von großem Vorteil ist.

3. Vergleich der Kreuzung mit ihren Ausgangsrassen. Zum Vergleich der Werte für die Merkmale der Kreuzung mit denen der Krainer und

Italiener Rasse wurden die Mittelwerte der Merkmale aller 3 Gruppen in einer Tabelle zusammengefaßt und die jeweiligen Werte von $t = \frac{D}{\sigma D}$ und Pt angegeben. t und Pt sind jeweils in der Spalte zwischen den beiden zugehörigen Mittelwerten angeführt.

Zuerst sind die Merkmale angeführt, deren Werte denen der Krainer Biene angenähert sind, als zweites folgen die Merkmale, deren Werte denen der Italiener gleichkommen. Zuletzt werden die Merkmale angegeben, die andere Durchschnittswerte aufweisen oder, wie die Flügelänge, bei allen 3 Gruppen gleich groß sind. Zur besseren Übersicht sind die Werte, die übereinstimmen, fett gesetzt; diejenigen Werte, die zwar eine statistisch gesicherte Differenz zeigen, aber dem Wert einer Rasse deutlich angenähert sind, wurden schräg gesetzt.

Tabelle 4

Merkmal	Krainer			Kreuzung			Italiener
	<i>M</i>	<i>t</i>	<i>Pt</i>	<i>M</i>	<i>t</i>	<i>Pt</i>	<i>M</i>
Der Krainer Rasse angenähert							
Labialtaster	0,607	0,75	0,6	0,609	6,75	<0,001	0,591
Länge der Radialzelle } . . .	3,328	0,78	0,6	3,335	3,9	<0,001	3,307
<i>a'</i>	2,015	0,96	0,4	2,024	6,3	<0,001	2,080
Cubitalzelle, Flächeninhalt } . . .	0,505	1,5	0,2	0,499	5,4	<0,001	0,517
Flügelhaken	20,17	1,53	0,2	20,46	7,8	<0,001	22,18
Sternit 3, Breite . .	5,149	1,65	0,1	5,121	2,79	0,01	5,079
<i>b'</i>	1,324	2,04	0,05	1,311	13,1	<0,001	1,222
<i>a':b'</i>	1,524	2,19	0,02	1,551	11,7	<0,001	1,716
<i>a</i>	0,579	3,3	0,0027	0,559	11,1	<0,001	0,618
Kopfbreite	3,938	4,08	<0,001	3,904	7,2	<0,001	3,856
Radialzelle, Flächeninhalt } . . .	1,320	9,9	<0,001	1,254	18,6	<0,001	1,136
Breite der Radialzelle } . . .	0,595	12,3	<0,001	0,566	19,5	<0,001	0,527
Der Italiener Rasse angenähert							
Sporn	0,603	3,75	<0,001	0,593	1,11	0,3	0,596
Sternit 2, Länge . .	1,460	3	0,0027	1,479	0,15	0,9	1,478
Sternit 3, Länge . .	1,861	11,4	<0,001	1,785	1,89	0,1	1,773
Tergit 3	2,345	7,65	<0,001	2,294	2,1	0,05	2,282
Fersenlänge	2,179	15	<0,001	2,089	3,15	0,0027	2,069
Wachsspiegel 3, Flächeninhalt } . . .	2,627	10,14	<0,001	2,434	3,3	0,0027	2,378
Tergit 2	2,597	7,5	<0,001	2,541	5,4	<0,001	2,505
Fersenbreite	1,242	16,11	<0,001	1,183	6,75	<0,001	1,210
Flügelbreite	2,510	25,2	<0,001	2,375	8,25	<0,001	2,331
Ohne Beziehung							
Sternit 2, Breite . .	4,215	5,28	<0,001	4,120	6,45	<0,001	4,234
<i>b</i>	0,228	11,4	<0,001	0,266	14,1	<0,001	0,222
<i>a:b</i>	2,518	8,4	<0,001	2,154	14,1	<0,001	2,830
Flügelänge	5,800	2,04	0,05	5,820	1,05	0,3	5,809

Wie die Tabelle zeigt, sind die Mittelwerte von 12 Merkmalen (also der Hälfte) denen der Krainer Bienen angenähert; 9 Merkmale weisen Werte auf, die denen der Italiener in etwa gleich sind, und bei 3 Merkmalen ist der Wert mit keiner der beiden Ausgangsrassen vergleichbar. Der Flügel ist bei der Kreuzung, der Krainer und Italiener Rasse gleich lang.

Die *Radialzelle* kommt in sämtlichen Merkmalen größenmäßig der der Krainer Bienen sehr nahe. Alle Längenmerkmale der Zelle, wie Radiallänge, a' , b' und der Radialindex $a':b'$ zeigen bei den Bienen der Kreuzung und der Krainer Rasse die gleichen Werte, die Differenzen zwischen ihnen sind zufällig. Die Breite und der Flächeninhalt der Radialzelle sind durchschnittlich kleiner als bei der Krainer Rasse, der Unterschied zu den Werten der Italiener ist aber wesentlich größer.

Auch die Größe der *Labialtaster*, des Flächeninhalts der *Cubitalzelle* sowie die Zahl der *Flügelhaken* ist statistisch nicht von der der Krainer Merkmale zu unterscheiden. Die Werte für die Strecke a der Cubitalzelle und für die Kopfbreite sind den Werten der Krainer Bienen angenähert. Als einziges Merkmal des Abdomen ist die Breite des 3. Sternit bei der Kreuzung und der Krainer Rasse gleich.

In bezug auf die anderen Maße des *Abdomen* gleicht die Kreuzung jedoch mehr der *Italiener* Rasse, mit Ausnahme der Breite des 2. Sternit; dieser ist bei der Kreuzung wesentlich schmaler ausgebildet als bei den beiden Ausgangsrassen.

Die Form der *Ferse* ähnelt der der Italiener Bienen sehr, vor allem in Sporn und Länge; die Breite ist durchschnittlich noch geringer als bei den Italienern.

Der *Flügel* der Kreuzung ist zwar breiter als der der Italiener, aber immer noch erheblich schmaler als der Flügel der Krainer Rasse.

Die Strecke b der Cubitalzelle, die bei Krainern und Italienern praktisch gleich lang ist, weist bei der Kreuzung einen höheren Wert auf; dadurch verkleinert sich der Cubitalindex auf wenig über 2, während der Wert bei den Krainer Bienen 2,5 und bei den Italienern sogar 2,8 beträgt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der *Kreuzung* die Merkmale des Kopfes und auch des Flügels bis auf Flügelbreite und b größenmäßig denen der Krainer Rasse gleichkommen, während die Merkmale des Abdomen mit Ausnahme der Breite des 2. und 3. Sternit und die Merkmale der Ferse in ihren durchschnittlichen Werten denen der Italiener Bienen angenähert sind.

4. Vergleich der Variabilitätskoeffizienten der einzelnen Merkmale.

Der Variabilitätskoeffizient nach PEARSON $V = \frac{\sigma}{M} \cdot 100$ gibt σ in Prozenten des arithmetischen Mittels an und ist ein relatives Maß für die Variabilität eines Merkmals.

In der folgenden Tabelle werden für jede Rasse und die Kreuzung gesondert die errechneten Variabilitätskoeffizienten für jedes Merkmal angegeben, der besseren Übersicht halber jeweils geordnet von der größten bis zur kleinsten vorkommenden Variabilität.

Wenn wir von einer Berechnung und Angabe des zufälligen Fehlers des Variabilitätskoeffizienten V absehen, läßt sich aus den obigen Werten folgendes ableiten:

Die Werte für die Merkmale der Kreuzung liegen im allgemeinen höher als die der Krainer Rasse, und diese wieder etwas höher als die der Italiener.

Tabelle 5

Krainer		Italiener		Kreuzung	
Merkmale	V	Merkmale	V	Merkmale	V
$a:b$	10,44	$a:b$	12,20	$a:b$	15,78
b	7,86	b	9,01	b	10,52
a	7,43	Flügelhaken	6,45	Flügelhaken	7,97
Flügelhaken	7,23	$a':b'$	6,00	a	7,15
Cubitalzelle, } Flächeninhalt	5,54	a	5,98	$a':b'$	5,99
$a':b'$	5,24	Cubitalzelle, } Flächeninhalt	3,87	Cubitalzelle, } Flächeninhalt	5,81
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	4,95	Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	3,74	Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	5,61
Radialzelle, } Flächeninhalt	3,03	a'	3,64	Radialzelle, } Flächeninhalt	4,38
b'	3,02	b'	3,19	b'	3,73
a'	2,92	Labialtaster	2,70	Sporn	3,71
Sternit 2, Breite	2,82	Sternit 2, Länge	2,57	a'	3,51
Sternit 2, Länge	2,81	Sternit 2, Breite	2,50	Labialtaster	3,28
Labialtaster	2,80	Radialzelle, } Flächeninhalt	2,46	Sternit 2, Breite	3,28
Breite der } Radialzelle	2,52	Sporn	2,35	Breite der } Radialzelle	3,18
Sporn	2,49	Breite der } Radialzelle	2,28	Sternit 2, Länge	3,18
Tergit 2	2,31	Sternit 3, Länge	2,03	Sternit 3, Länge	2,91
Sternit 3, Länge	2,31	Fersenzlänge	1,98	Fersenzbreite	2,79
Sternit 3, Breite	2,25	Fersenzbreite	1,98	Sternit 3, Breite	2,42
Tergit 3	2,13	Tergit 2	1,91	Fersenzlänge	2,25
Fersenzlänge	1,83	Länge der } Radialzelle	1,78	Länge der } Radialzelle	2,07
Länge der } Radialzelle	1,80	Sternit 3, Breite	1,69	Tergit-3	1,92
Fersenzbreite	1,69	Tergit 3	1,53	Flügelbreite	1,85
Kopfbreite	1,52	Flügelänge	1,31	Tergit 2	1,77
Flügelänge	1,50	Flügelbreite	1,29	Kopfbreite	1,59
Flügelbreite	1,31	Kopfbreite	0,75	Flügelänge	1,27

Abgesehen davon besteht eine große Übereinstimmung zwischen den 3 Gruppen: sowohl bei den Krainer als auch bei den Italiener Bienen und der Kreuzung variiert der Cubitalindex $a:b$ am stärksten, dann folgen b und die Zahl der Flügelhaken. Die Reihenfolge der einzelnen Merkmale vom höchsten bis zum niedrigsten Variabilitätsgrad ist bis auf geringe Abweichungen die gleiche.

Alle Merkmale der *Cubitalzelle*, a , b und der Index $a:b$, außerdem der Flächeninhalt der Zelle variieren sehr stark. Dies wurde bereits von KELLOGG und BELL (1904) und ASHMEAD (1904) für andere Merkmale der Zelle beschrieben und trifft also auch im Vergleich mit sehr vielen Merkmalen zu.

Ebenso wird die schon oft festgestellte große *Variabilität* der Anzahl der *Flügelhaken* bestätigt.

Von den Merkmalen der Radialzelle sind vor allem der Radialindex $a':b'$, der Flächeninhalt der Zelle und die einzelnen Strecken a' und b' sehr variabel. Breite und Länge der Zelle variieren weniger stark.

Dagegen weisen Flügelänge und -breite eine besonders geringe Variabilität auf; auch in dieser Beziehung stimmen also die hier vorgelegten Ergebnisse mit denen von KELLOGG und BELL überein, die schon 1904 feststellten, daß die einzelnen Strecken des Flügels sehr viel stärker variieren als die Gesamtlänge und -breite des Flügels.

Dasselbe trifft für die Merkmale des *Kopfes* zu; die Kopfbreite selbst ist nur wenig variabel, während die Länge des 2. Labialtastergliedes eine doppelt so hohe Variabilität aufweist.

Die Werte für die Merkmale des Abdomen und der Ferse liegen bei allen 3 Gruppen in der Mitte.

II. Analyse der korrelativen Beziehungen zwischen den Merkmalen

1. Feststellung der Korrelationen mit Hilfe der Graphischen Form- und Korrelationsanalyse an je 100 Tieren. Zur Feststellung der Korrelationen benutzte ich die von KÜHL 1929 entwickelte und in seiner Arbeit „Die Variabilität der abdominalen Körperanhänge von *Forficula auricularia* L.“ angewandte Graphische Form- und Korrelationsanalyse. Die Arbeit von KÜHL ergab, daß diese Methode sich besonders für die Analyse eines *geringen Zahlenmaterials* eignet und es gestattet, *vielen Merkmalen gleichzeitig* hinsichtlich der korrelativen Beziehungen zwischen ihnen zu untersuchen.

Eine Analyse der in der vorliegenden Arbeit an der Biene gemessenen 24 Merkmale mit Hilfe der üblichen Korrelationstabellen wäre sehr zeitraubend gewesen, da man in der Tabelle immer nur je 2 Merkmale untersuchen kann, während bei der Anwendung der *Graphischen Form- und Korrelationsanalyse* alle Merkmale in einer Tabelle eingezeichnet werden

und so eine wesentlich bessere Übersicht erreicht wird. Sie erschien demnach für die vorliegende Untersuchung besonders geeignet und wert, weiter ausgebaut zu werden.

Die *Methode* beruht auf folgendem: in einem rechtwinkligen Koordinatensystem werden auf der Abszissenachse in gleichen Abständen Ordinaten aufgetragen. Jede dieser Ordinaten repräsentiert eine gemessene Biene. Auf ihr werden die Größenwerte der einzelnen Merkmale übereinander eingezeichnet. Die Ordinate über der Nummer eines Tieres zeigt also die Größe aller hier gemessenen Merkmale des Tieres an. Verbindet man nun alle, die Größe eines bestimmten Merkmals bezeichnenden Punkte aller Ordinaten, so ergeben sich für jedes Merkmal charakteristische Kurven.

Ordnet man die Nummern der Tiere nach *steigender Größe für ein Merkmal* an, so lassen die darüberstehenden Kurven der anderen Merkmale erkennen, ob irgendeine größenmäßige Beziehung zwischen dem Leitmerkmal und einem anderen Merkmal besteht. Liegt zum Beispiel eine positive Korrelation vor, so zeigt die Kurve des mit dem Leitmerkmal korrelierenden Merkmals ebenfalls einen Anstieg von kleineren zu größeren Werten. Je stärker der Parallelverlauf der beiden Kurven ist, desto größer ist die Korrelation zwischen ihnen.

Bei einer negativen Korrelation ordnen sich die Werte des mit dem Leitmerkmal korrelierenden Merkmals vom größten zum kleinsten Wert, also in einer absteigenden Kurve, an. Besteht keinerlei gesetzmäßige Beziehung zwischen 2 Merkmalen, so ergibt sich eine unregelmäßige Kurve ohne deutlichen An- oder Abstieg.

Man kann demnach aus der graphischen Darstellung ablesen, ob ein Merkmal mit dem Leitmerkmal korreliert oder nicht.

Die eventuellen Korrelationen zwischen anderen Merkmalen sind jedoch noch in der Tabelle verborgen; sie werden erst sichtbar, wenn man jedes der Merkmale einmal nach steigender Größe ordnet (Umordnung) und die dazugehörigen Werte der anderen Merkmale einzeichnet.

In dem vorliegenden Falle hätten also 24 Umordnungen und demnach 24 Tabellen gezeichnet werden müssen. Zur Vereinfachung des Verfahrens wurden die Werte für ein Tier auf 0,5 cm breite Pappstreifen, die mit Millimeterpapier beklebt waren, eingetragen. Jeder Streifen



Abb. 12. Schema der Darstellung der linken und rechten Merkmalsgrößen. Größe des linken Merkmals in schwarzem Rechteck. Abweichungen des rechten Merkmals werden, wenn größer, mit einem schwarzen Strich oberhalb, wenn kleiner, mit einem weißen unterhalb der Begrenzungslinie eingezeichnet.

entspricht einer Ordinate der vorstehenden 1. Anwendung der Methode. 100 Streifen für 100 Tiere wurden nebeneinandergelegt und auf einem rahmenartigen Brett derart befestigt, daß sie leicht umgewechselt werden konnten. Die Umordnung wurde dadurch wesentlich vereinfacht: es war nur noch erforderlich, ein Merkmal vom kleinsten bis zum größten

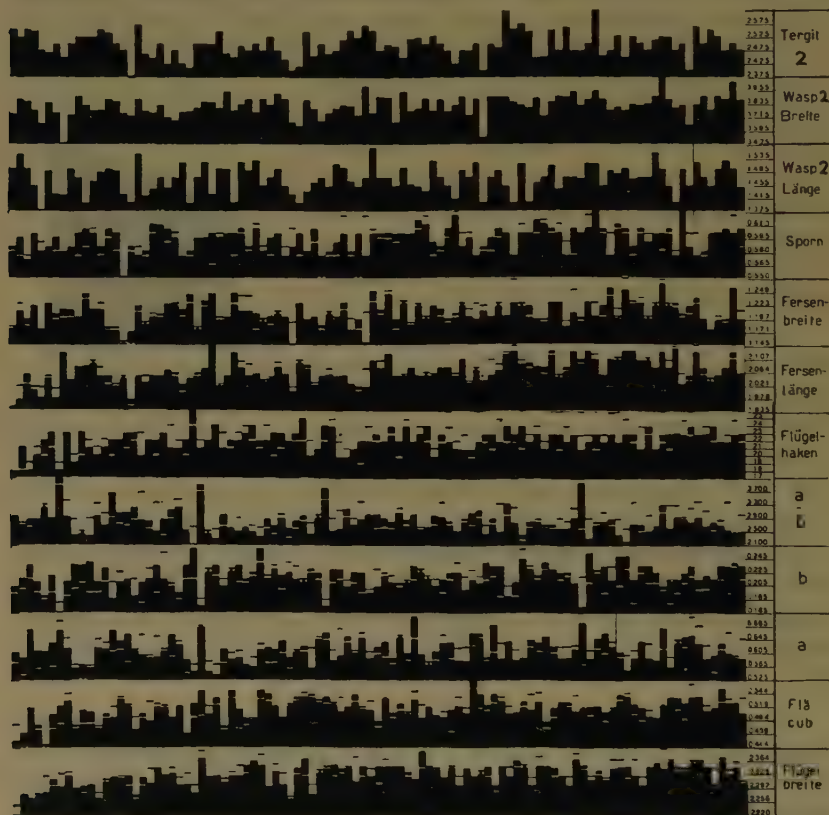


Abb. 13 a. Beispiel für die Anwendung der graphischen Form- und Korrelationsanalyse: Italiener Volk aus Celle (C), je 100 Tiere. Darstellung des 2. Teils der 6. Umordnung nach dem Merkmal: Länge der Radialzelle. Jede Ordinate (schwarzes Rechteck) stellt eine Biene dar. Merkmale in Abkürzungen rechts. Es bedeutet von unten nach oben: Flä. cub. = Flächeninhalt der 3. Cubitalzelle; Wasp. 2 Länge = Länge des 2. Sternit; Wasp. 2 Breite = Breite des 2. Sternit. Die Zahlenreihe rechts gibt bei Längen in Millimeter, bei Flächen in Quadratmillimeter die Schwankungsbreite des betreffenden Merkmals an

Wert zu ordnen; damit werden die anderen Merkmale zwangsläufig mit umgeordnet. Dies hat den großen Vorteil, daß die Werte nur einmal eingetragen zu werden brauchen und die Umordnung sehr vereinfacht nur in einem Umlegen der Streifen besteht.

Jede einzelne Umordnung wurde photographiert, um das Ergebnis festzuhalten. Wegen der großen Anzahl der Merkmale mußten die Werte

getrennt, zu je 6 Merkmalen, im ganzen auf 4 Streifen je Tier eingezeichnet werden.

Der kleinste Wert eines Merkmals wurde gleich 0 gesetzt und alle Werte bis zum größten jedes Merkmals auf dem Streifen innerhalb von



Abb. 13 b. Italiener Volk aus Celle (C), je 100 Tiere. Darstellung des 1. Teils der 6. Umordnung nach dem Merkmal: Länge der Radialzelle (3. von unten). Jede Ordinate (schwarzes Rechteck) stellt eine Biene dar. Merkmale in Abkürzungen rechts. Es bedeutet von unten nach oben: rad. Flä. = Flächeninhalt der Radialzelle; rad. Breite = Breite der Radialzelle; rad. Länge = Länge der Radialzelle; Wasp. 3 Flä. = Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels; Wasp. 3 Länge = Länge des 3. Sternit; Wasp. 3 Breite = Breite des 3. Sternit. Die Zahlenreihe rechts gibt bei Längen in Millimeter, bei Flächen in Quadratmillimeter die Schwankungsbreite des betreffenden Merkmals an

5 cm in der Höhe abgetragen. Dadurch konnten die verschiedenen Größen der Merkmale ausgeschaltet und ihre Variabilität in etwa verglichen werden.

Da die Streifen ständig umgelegt werden mußten, konnten die Werte nicht mit einem Punkt bezeichnet und diese dann durch Linien verbunden werden. Die deutlichste Darstellung wurde erreicht, in dem der Abstand zwischen dem betreffenden Wert und dem kleinsten Wert des Merkmals schwarz ausgezogen wurde. Die sich dadurch ergebenden langgezogenen Rechtecke lassen, nebeneinandergestellt, das Bild einer Kurve entstehen.

Es wurden die Größenwerte der Merkmale der linken und rechten Seite untersucht. Die Merkmale der linken Seite wurden durch schwarze Rechtecke bezeichnet (Abb. 12) die Größe der Merkmale der

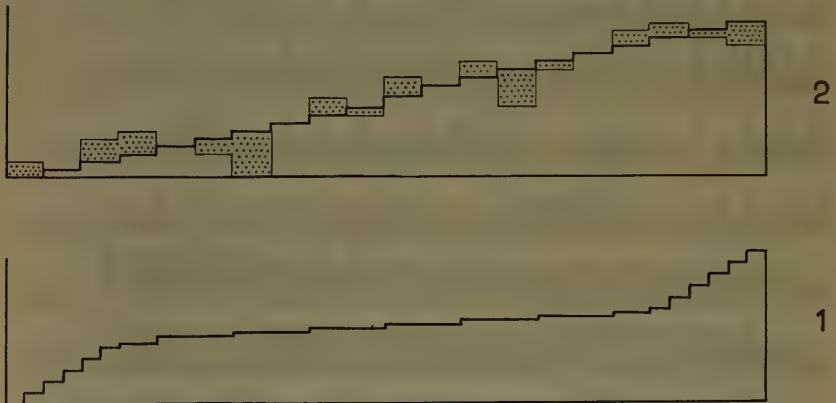


Abb. 14. Schema der Art der Berechnung des Korrelationsgrades an je 40 Tieren. 1. Leitmerkmal nach steigenden Werten angeordnet. Merkmal variiert wenig. 2. Zu 1 positiv korrelierendes, stark variierendes Merkmal = dünnegezeichnete, unregelmäßig auf- und absteigende Außenkontur der punktierten Felder; dickgezeichnete Linie = Merkmal 2 nach steigender Größe geordnet; punktierte Fläche = Fläche der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve

rechten Seite, wenn sie höhere Werte als die der linken Seite aufwiesen, durch einen schwarzen Strich oberhalb des Rechtecks, im anderen Falle innerhalb des Rechtecks mit einem weißen Strich gekennzeichnet (Abb. 12).

2. Berechnung des Korrelationsgrades aus den graphischen Darstellungen. Aus den durch das Umordnen gewonnenen graphischen Darstellungen konnte zwar bei einer *Gleichläufigkeit* der Kurven auf das Vorhandensein einer *Korrelation* geschlossen werden, aber es war schwer, zu entscheiden, wo gerade noch eine Korrelation vorliegt und wo nicht mehr, oder ob ein Merkmal stärker korrelierte als ein anderes. Um den *Korrelationsgrad* bestimmen zu können wurde versucht, ihn aus den graphischen Darstellungen zu berechnen.

Es wurde von folgender Überlegung ausgegangen: Durch das *Umordnen* erhält man die Kurve des nach *steigenden Werten* geordneten

1. *Merkmals* (Schema Abb. 14, 1) und die dazugehörigen Werte des zu ihm in Korrelation stehenden 2. Merkmals (Schema Abb. 14, 2; dünn gezeichnete Außenkontur der punktierten Felder). Die Kurve des 2. Merkmals ist ebenfalls aufsteigend, jedoch unregelmäßig.

Läge nun eine *ideale positive Korrelation* vor zwischen Merkmal 1 und 2, so würde Merkmal 2 sich ebenso wie Merkmal 1 vom kleinsten zum größten Wert anordnen, dem kleinsten Wert von Merkmal 1 würde der kleinste Wert von Merkmal 2 entsprechen, dem nächstgrößeren von Merkmal 1 der nächstgrößere von Merkmal 2 usw. bis zum größten Wert. Es würde sich also für Merkmal 2 seine regelmäßige geordnete Anstiegs-



Abb. 15. Schema wie Abb. 14. 2. Zu 1 negativ korrelierendes Merkmal

kurve ergeben (Schema Abb. 14, 2; dick gezeichnete Linie). Im Falle einer *idealen negativen Korrelation* zwischen Merkmal 1 und Merkmal 2 würden sich die Werte des 2. Merkmals vom größten bis zum kleinsten Wert, also gegenläufig, anordnen (Schema Abb. 15, 2; dick gezeichnete Linie).

Je mehr die Kurve des mit dem Leitmerkmal korrelierenden Merkmals 2 ansteigt, d. h. je mehr sie ihrer eigenen geordneten Anstiegskurve gleichkommt, desto höher ist die Korrelation. Zeichnet man in die tatsächlich vorliegende Kurve des Merkmals 2, die eine in ihrem Grade noch unbestimmte positive Beziehung aufweist, die geordnete Anstiegskurve dieses Merkmals hinein, so zeigt der Grad der Abweichungen der tatsächlichlichen Kurve von der geordneten Anstiegskurve, in welchem Umfange die in Korrelation stehende Kurve vom Idealfalle abweicht (Schema Abb. 14, 2; Abweichungsfläche punktiert).

Die Größe des *Flächeninhaltes der Abweichungen* von der *geordneten Anstiegskurve* ist demnach ein Ausdruck für den Grad der Korrelation. Je größer die Abweichung von der positiven oder negativen geordneten Anstiegskurve ist, desto geringer ist die positive oder negative Korrelation. Werden die Kurven auf Millimeterpapier gezeichnet, so ist der

Flächeninhalt der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve durch einfaches Auszählen leicht zu bestimmen. (Der Einfachheit halber wird der Flächeninhalt der Abweichung im folgenden nur Abweichung genannt.)

Der erhaltene Wert wäre sofort mit anderen, auf gleiche Weise gewonnenen Werten von Korrelationskurven zu vergleichen, wenn alle Merkmale in der gleichen Weise variierten. Da jedoch die geordnete Anstiegskurve eines Merkmals gleichzeitig ein Ausdruck für die Variabilität des Merkmals ist, wird sie, je nachdem, wie stark das Merkmal variiert, anders aussehen.

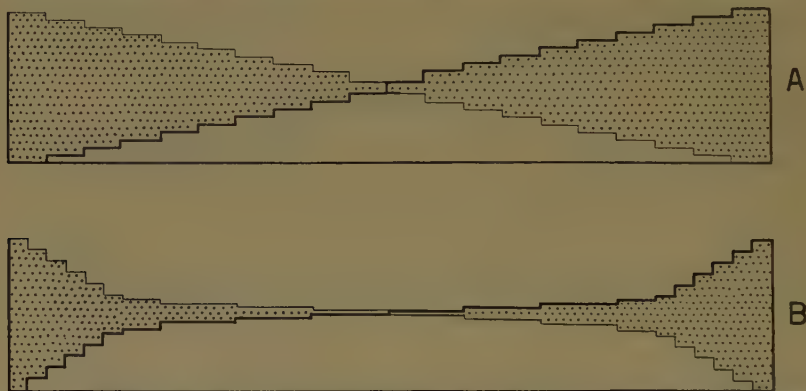


Abb. 16. Gegenüberstellung eines wenig variierenden Merkmals (B) und eines stark variierenden Merkmals (A). Dickgezeichnete Linie = geordnete Anstiegskurve; dünngezeichnete Linie = absteigende, gegenläufige Kurve = größte Abweichung von der geordneten Anstiegskurve; punktierte Fläche = Fläche der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve. Nähere Erläuterungen s. Text

Ein gering variierendes Merkmal weist nur wenige Extremwerte auf, und die Größenwerte der meisten Tiere sind in etwa gleich. Die Anstiegskurve eines solchen Merkmals stellt sich annähernd so dar, wie Schema Abb. 16, B (dick gezeichnete Linie) zeigt. Die Kurve steigt nur zu Beginn und zum Schluß stark an, in ihrem größten Abschnitt verläuft sie fast waagerecht. Je stärker dagegen das Merkmal variiert, desto gleichmäßiger steigt die Kurve an (Schema Abb. 16, A; dick gezeichnete Linie). Bei einem wenig variierenden Merkmal können die Abweichungen von der geordneten Anstiegskurve nur gering sein, da ja nur die Extremwerte größere Abweichungen zeigen, während bei einem stark variierenden Merkmal in jedem Falle die Abweichungen größer sind. Dies zeigt sich besonders deutlich, wenn man die größtmögliche Abweichung, die bei beiden vorkommen kann, vergleicht. Die *größtmögliche* Abweichung von der geordneten Anstiegskurve ist die absteigende, gegenläufige Kurve, also die *ideale negative Kurve* (Schema Abb. 16, A, B; dünn gezeichnete Linie). Der Flächeninhalt der größten Abweichung von der

geordneten Anstiegskurve ist bei dem wenig variierenden Merkmal B wesentlich geringer als bei dem stark variierenden Merkmal A (Schema Abb. 16; Abweichung punktiert). Ein direkter Vergleich der ausgezählten Abweichungen von der geordneten Anstiegskurve ist demnach nicht möglich. Es gilt nun, den absoluten Wert der Abweichung in einen *relativen*, vergleichbaren zu überführen.

Der Wert des Flächeninhalts der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve kann nur innerhalb 0 und dem Wert der für das betreffende Merkmal größten Abweichung liegen, die auszuzählende Fläche ist also in jedem Fall ein Teil der Fläche der größten Abweichung.

Gibt man den *tatsächlichen Flächenwert* der Abweichung in *Prozenten der größten Abweichung* an, so erhält man ein *relatives Maß* für die Abweichung, das man mit *jedem anderen*, auf dieselbe Weise gewonnenen, vergleichen kann.

Es trat noch folgende Schwierigkeit auf: zu gleichen Werten des Ordnungsmerkmals 1 gehören meist verschieden große Werte des 2. Merkmals. Ordnet man letztere innerhalb der Kurve nach steigender Größe (Schema Abb. 17, A, 2; dünn gezeichnete Außenkontur der punktierten

Felder), so wird eine Korrelation vorgetäuscht, die nicht da ist, und der Wert der Abweichung (Schema Abb. 17, A 2; punktierte Fläche) wird geringer, da ja die Idealkurve innerhalb dieses Abschnitts ansteigt. Ordnet man sie dagegen nach fallender Größe (Schema Abb. 17, B), so wird der Wert der Abweichung größer; es entsteht also in beiden Fällen ein Fehler. Der wirkliche Wert, der diese Fehler ausschaltet, muß in der Mitte zwischen dem zu großen und zu kleinen Wert liegen.

Bei verschiedenen Werten des 2. Merkmals zu gleich großen Meßdaten des 1. Merkmals wurden demnach die Werte des 2. Merkmals innerhalb dieses Abschnittes nach steigenden Werten eingezeichnet und deren Abweichung von der geordneten Anstiegskurve ausgezählt, dann aber in einer zweiten Darstellung nur dieses Ausschnittes nach fallender Größe umgezeichnet und ihre Abweichung ermittelt. Die Mitte zwischen diesen beiden Werten der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve stellt den *wirklichen Wert der Abweichung* innerhalb dieses Abschnittes dar.



Abb. 17. Darstellung der bei gleichen Werten von Merkmal 1 verschiedenen Werte des 2. Merkmals. A 1 = Ausschnitt der Anstiegskurve von Merkmal 1; innerhalb der gestrichelten Linien = gleiche Werte von Merkmal 1. A 2 = dickgezeichnete Linie = Ausschnitt der Anstiegskurve von Merkmal 2; dünn gezeichnete Außenkontur der punktierten Felder = innerhalb der gestrichelten Linien nach steigender Größe geordnete Werte dieses Abschnitts; punktierte Fläche = Abweichung von der geordneten Anstiegskurve. B 2 = nach fallender Größe geordnete Werte des Ausschnitts. Näheres s. Text

Zur Verdeutlichung des Berechnungsganges werden im folgenden die einzelnen Schritte zur Ermittlung des Korrelationsgrades an gemessenen Größenwerten von 50 Italiener Bienen an Hand einer Abbildung nacheinander geschildert (Abb. 18).

Als Erstes werden die Werte des Leitmerkmals (hier der Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels) nach steigender Größe geordnet und in ein Koordinatensystem eingetragen (Abb. 18, 1). Die dazugehörigen Werte des 2. Merkmals (hier die Breite des 3. Wachsspiegels = Sternit) werden in einem 2. Koordinatensystem über denen des 1. Merkmals eingezeichnet (Abb. 18, 2; dünn gezeichnete Außenkontur der punktierten Felder, unregelmäßig aufsteigend). Die übereinanderstehenden Werte der beiden

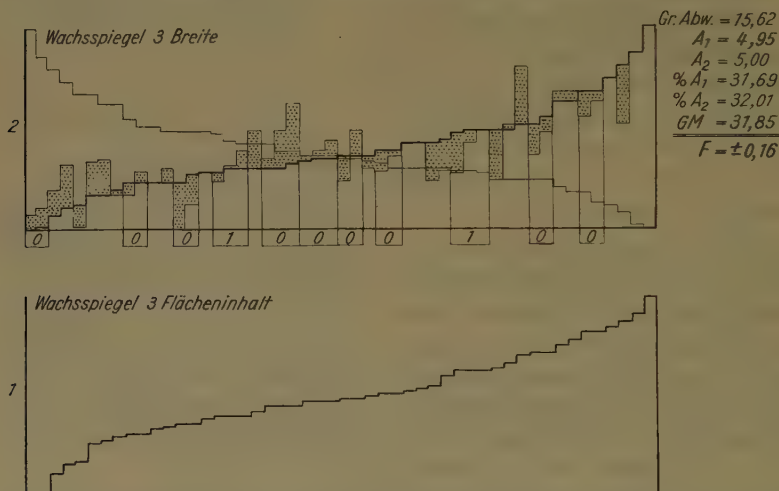


Abb. 18. Beispiel der Berechnung des Korrelationsgrades zwischen Merkmal 1 (Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels) und Merkmal 2 (Breite des 3. Wachsspiegels = Sternit) gemäß der in Abb. 14, 15, 16 und 17 entwickelten Methode. Nähere Erläuterung s. Text

Merkmale gehören jeweils zu einem Tier. (Die Breite einer Ordinate sei 2,5 mm, die kleinste Abstufung zwischen 2 Größenwerten sei 0,5 mm).

In die Korrelationskurve des 2. Merkmals wird seine geordnete Anstiegskurve (Abb. 18, 2; aufsteigende dick gezeichnete Linie), und die gegenläufige, negative Kurve (Abb. 18, 2; absteigende dünn gezeichnete Linie) eingezeichnet und durch Auszählung der Flächeninhalt der größten Abweichung (Gr. Abw.) (Abb. 16; punktiert) bestimmt. Der Wert beträgt hier 15,62 cm². Danach zählt man die Abweichungen der tatsächlichen Korrelationskurve von der geordneten Anstiegskurve (Abb. 18, 2; punktierte Fläche) aus. Die bei gleichen Werten von Merkmal 1 verschiedenen Werte von Merkmal 2 sind nach steigender Größe eingetragen.

Die Summe dieser Abweichungen (hier $4,95 \text{ cm}^2$) wird als A_1 unterhalb des Wertes der größten Abweichung verzeichnet.

Als Nächstes werden die bei gleichen Werten von Merkmal 1 verschiedenen Werte des 2. Merkmals nach fallenden Größenwerten umgezeichnet. Dies geschieht jeweils für den durch senkrechte Striche gekennzeichneten Ausschnitt (Abb. 18, 2) in einer 2. Darstellung, die Schema Abb. 17, B, 2 entspricht und hier wegfallen kann. Die Abweichungen von der geordneten Anstiegskurve innerhalb dieses Abschnittes werden ebenfalls ausgezählt. Den Unterschied zwischen diesem Wert und dem, der sich aus der 1. Darstellungsweise ergab, gibt man in dem durch die senkrechten Striche bezeichneten Feld unterhalb der Abszissenachse an. Addiert man diese Zahlen und berechnet aus der Summe den Flächeninhalt der unterschiedlichen Abweichung ($2 \cdot 2,5 = 5 \text{ mm}^2 = 0,05 \text{ cm}^2$), so erhält man durch Hinzuzählen dieses Wertes zu A_1 ($4,95 + 0,05 = 5 \text{ cm}^2$) den Flächeninhalt der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve, wenn die bei gleichen Werten von Merkmal 1 verschiedenen Werte des 2. Merkmals nach fallenden Größenwerten angeordnet sind: A_2 .

A_1 bezeichnet demnach den Flächeninhalt der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve, wenn bei gleichen Werten von Merkmal 1 die verschiedenen Werte des 2. Merkmals nach steigender Größe eingetragen sind,

A_2 den Flächeninhalt der Abweichung, wenn diese Werte nach fallender Größe geordnet sind.

Die Berechnung des *prozentualen Anteils* von A_1 und A_2 an dem Wert der größten Abweichung ergab:

$$\% A_1 = 31,69 \quad \% A_2 = 32,01.$$

Die Mitte zwischen diesen beiden Werten wird durch GM (graphisches Mittel) bezeichnet.

$$GM = 31,85\%.$$

F gibt die Differenz zwischen GM und sowohl A_1 als auch A_2 an. Sie beträgt hier $\pm 0,16$.

Das „graphische Mittel“ GM ist also bei allen berechneten Korrelationen vergleichbar. Es gibt den Flächeninhalt der Abweichung von der geordneten Anstiegskurve in Prozenten der größten Abweichung an und läßt den Grad der Korrelation zweier Merkmale erkennen.

Es liegen n -Wertepaare (x_j, y_j) vor, bei denen x_j und y_j zusammengehörige Werte zweier Merkmale eines Tieres sind.

Das nach steigender Größe geordnete Merkmal 1 kann man allgemein folgendermaßen definieren:

$$x_1 < x_2 \cdots < x_j \cdots < x_n.$$

Merkmal 2, nach steigender Größe geordnet, entsprechend:

$$y'_1 < y'_2 \cdots < y'_j \cdots < y'_n.$$

Bezeichnet man nun den zu einem bestimmten Wert von Merkmal 1 (x_j) gehörenden Wert des Merkmals 2 (y_j) als $y'_{q(j)}$, so ist die Summe der Abweichungen von der geordneten Anstiegskurve des Merkmals 2:

$$A = \sum_1^n |y'_j - y'_{q(j)}|.$$

Lassen die graphischen Umordnungstabellen eine negative Korrelation vermuten, so werden die Abweichungen der Korrelationskurve von der negativen, absteigenden Kurve ausgezählt, ihr Flächeninhalt berechnet und in Prozenten der größten Abweichung ausgedrückt. Der Wert erhält zur Kennzeichnung ein negatives Vorzeichen.

Nennen wir in diesem Falle die Summe der Abweichungen von der negativen, also absteigenden geordneten Kurve B, so ist

$$B = \sum_1^n |y'_{n+1-j} - y'_{q(j)}|.$$

Die oben beschriebene größte Abweichung wird durch die Formel

$$T = \sum_1^n |y'_{n+1-j} - y'_j|$$

bezeichnet.

Das graphische Mittel GM ist also

$$GM = \begin{cases} \frac{A}{T} & \text{für } A < B \\ -\frac{B}{T} & \text{für } A > B. \end{cases}$$

In Grenzfällen, bei denen auf Grund der Umordnungskurven nicht mehr entschieden werden kann, ob $A < B$ oder $A > B$ ist, muß sowohl $\frac{A}{T}$ als auch $\frac{B}{T}$ bestimmt werden, um entscheiden zu können, welches der beiden Maße angewandt werden muß.

Liegt der Wert des GM für $A < B$ zwischen 0 und 50 bzw. für $A > B$ zwischen 0 und -50 , so weist das auf positive bzw. negative Korrelation.

Ist der Wert des $GM = \frac{A}{T}$ bei $A < B$ höher als 50 bzw. $GM = -\frac{B}{T}$ für $A > B$ niedriger als -50 , so liegt nur schwache oder keine Korrelation vor. Die korrelative Beziehung ist um so höher, je kleiner der Wert des graphischen Mittels ist.

Diese Normierung ist jedoch insofern ungewohnt, als bei $GM = 0$ eine ideale Korrelation vorliegt und bei großem Absolutwert von GM

schwache Korrelation herrscht, während bei der in der Statistik üblichen Normierung der klassische Korrelationskoeffizient ein gleichsinniges Maß der Abhängigkeit darstellt.

Zu erreichen ist diese gewohnte und übliche Normierung, indem man $\frac{A}{T}$ zu $1 - \frac{2A}{T}$ und $-\frac{B}{T}$ zu $\frac{2B}{T} - 1$ umrechnet.

$$GM = \begin{cases} \frac{A}{T} & \text{für } A < B \\ -\frac{B}{T} & \text{für } A > B \end{cases}$$

würde dann in der umgeänderten Normierung

$$w = \begin{cases} u = 1 - \frac{2A}{T} & \text{für } A < B \\ v = \frac{2B}{T} - 1 & \text{für } A > B \end{cases}$$

sein.

w liegt zwischen 1 und -1 . $w=1$ bedeutet strenge gleichsinnige, $w=-1$ strenge gegensinnige Korrelation.

In den Tabellen sind die umgerechneten Werte, also u in den Fällen $GM = \frac{A}{T}$ und v in den Fällen $GM = -\frac{B}{T}$, zusätzlich angegeben. Die so erhaltenen Werte sind jedoch nicht mit den Werten des Korrelationskoeffizienten r vergleichbar, da sie auf völlig andere Art und Weise gewonnen sind und ihm auch in ihrer Höhe durchaus nicht entsprechen.

Bei der Berechnung der Korrelationen ist es nicht nötig, die geordnete Anstiegskurve des 1. Merkmals jedesmal einzuzichnen. Es genügt, nach den geordneten Werten von Merkmal 1 die entsprechenden Maße des 2. Merkmals in dessen Anstiegskurve einzutragen, und danach die Abweichungen auszuzählen.

Vergleichsweise wurde für 4 auf diese Weise berechnete Korrelationen der in der Statistik übliche Korrelationskoeffizient r ausgerechnet. Die Ergebnisse sind insofern vergleichbar, als sich bei beiden Berechnungsarten Korrelationen ergeben, die sich in ihrem Grad in etwa gleichkommen. Da jedoch die Werte auf völlig andere Art und Weise gewonnen worden sind, ist eine weitere Vergleichung nicht möglich.

Tabelle 6

Merkmale	GM	w	r
Flügelänge ↔ Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	39,73	0,206	0,537
Flügelänge ↔ Sternit 3, Breite	40,01	0,200	0,590
Flügelänge ↔ Tergit 3	40,59	0,189	0,609
Flügelänge ↔ Kopfbreite	40,39	0,193	0,625

Es wurden nur die einzelnen Strecken der Indizes $a:b$ und $a':b'$, nicht die Quotienten selbst nach eventuellen Korrelationen zu anderen Merkmalen untersucht, da eine Beziehung eines Index zu einem Merkmal immer auf der Beziehung *einer* der beiden Strecken zu dem betreffenden Merkmal beruhen wird. Dies wurde durch die Analyse der Umordnungstabellen bestätigt, in denen die Indizes mitberücksichtigt waren.

Die hier angewandte und weiter ausgebauten „Graphische Form- und Korrelationsanalyse“ hat einige Vorteile gegenüber der in der Statistik üblichen Berechnung des Korrelationskoeffizienten r ; es ergeben sich jedoch auch gewisse Nachteile.

Vorteilhaft ist, daß man durch die graphische Darstellung und das *Umordnen der Kurven* sämtliche Merkmale zu gleicher Zeit in ihrer *linken und rechten* Ausbildung überblicken und auf Korrelationen untersuchen kann, während die *Korrelationstabellen* nur für je *zwei* Merkmale gelten.

Die entwickelte Methode zur Berechnung der korrelativen Beziehungen hat den Vorteil, daß sie in *jedem Falle* angewandt werden kann, während die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r nur dann zulässig ist, wenn die Regression geradlinig, das heißt, wenn die durchschnittliche Zunahme der Größe des einen Merkmals der durchschnittlichen Zunahme der Größe des anderen Merkmals einfach proportional ist.

Ein Nachteil der graphischen Methode liegt darin, daß das Ergebnis immer einen zufälligen Fehler miteinschließt, der hier in seiner Höhe kaum festzustellen und zu berechnen ist, während für die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r eine ausgedehnte Fehlerrechnung entwickelt worden ist, die es möglich macht, den bei einer beschränkten Anzahl von Messungen immer auftretenden zufälligen Fehler zu bestimmen und dadurch das Ergebnis zu sichern.

Naturgemäß wird die Berechnung des Korrelationsgrades um so genauer, je größer die Zahl der Messungen ist, auf denen sie basiert. Die graphische Methode ist jedoch zur Auswertung einer größeren Anzahl von Meßdaten (etwa mehr als 150) nicht geeignet, da die Kurve dann zu unübersichtlich und eine Auszählung der Abweichungen zu beschwerlich wird.

Im Rahmen dieser Arbeit wird darauf verzichtet, eine bloße Aufstellung aller errechneten Korrelationen zu geben¹. Die Werte werden innerhalb der folgenden vergleichenden Gegenüberstellung der typischen Verhältnisse der Krainer und Italiener Bienen sowie der Kreuzung vorgelegt.

3. Vergleich der Ergebnisse der Korrelationsauswertung. a) *Korrerelative Beziehungen innerhalb des Flügels.* Die Folgerungen, die aus den

¹ Die Tabellen aller errechneten Korrelationen sind im Institut für kinematische Zellforschung der Universität Frankfurt am Main hinterlegt.

ermittelten Daten, vor allem den kleinen Korrelationsgraden, gezogen werden, müssen mit einer gewissen Einschränkung betrachtet werden, da, wie bereits oben betont wurde, eine Berechnung und Angabe des zufälligen Fehlers der Daten nicht möglich war.



Abb. 19. Darstellung der graphischen Form- und Korrelationsanalyse; 100 Bienen der Kreuzung. 1. Anordnung: Leitmerkmal = Flügelänge; Korrelierende Merkmale = Länge der Radialzelle (rad. Länge), a' , Flächeninhalt der Radialzelle (rad. Flä.)

Bei den beiden Rassen und der Kreuzung läßt sich eine Abhängigkeit der *Flügelänge* von der Länge der *Radialzelle* feststellen.

	<i>GM</i>	<i>w</i>
Flügelänge ↔ Länge der Radialzelle	Krainer. 24,60	0,504
	Italiener 30,13	0,398
	Kreuzung 29,68	0,407

Die *Länge der Radialzelle* wiederum, die aus den Strecken a' und b' besteht, korreliert mit a' .

		<i>G M</i>	<i>w</i>	
Länge der Radialzelle $\leftrightarrow a'$	Krainer	38,67	0,227	(Abb. 13)
	Italiener	31,00	0,375	
	Kreuzung	37,41	0,253	

Die Strecke b' weist keine Beziehung zur Länge der Radialzelle auf, sie steht nur bei den Italiener Bienen in negativer Korrelation zu a' .

$a' \leftrightarrow b'$ Italiener —41,69 —0,119 (Abb. 20)



Abb. 20. 9. Umordnung der Italiener Rasse. Leitmerkmal: a' ; negativ korrelierend = b' ; positiv korrelierend = Länge der Radialzelle, (rad. Länge), a' : b'

Außerdem besteht eine positive Korrelation zwischen a' und der Flügellänge.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
$a' \leftrightarrow$ Flügellänge	Krainer	33,86	0,318
	Italiener	41,81	0,165
	Kreuzung	42,30	0,156

Die Länge des Flügels ist also in starkem Maße abhängig von der Länge der Radialzelle und damit auch von der Größe der Strecke a' . b' steht in keiner Beziehung zur Länge der Radialzelle und korreliert nur bei den Italiener Bienen negativ mit a' . Bereits ein Vergleich der Mittelwerte hatte ergeben, daß a' bei der Italiener Rasse wesentlich größer und b' kleiner ist als bei der Krainer Rasse und der Kreuzung. Diese Verhältnisse werden durch die festgestellte negative Korrelation erläutert: je größer a' , desto kleiner ist die Strecke b' .

Der Flächeninhalt der Radialzelle ist bei der Italiener Rasse völlig unabhängig von ihrer Länge und der Flügellänge. Auch darin unterscheidet sie sich von der Krainer Rasse und der Kreuzung.

				<i>G M</i>	<i>w</i>	
Radialzelle, Flächeninhalt	} ↔	Länge der Radialzelle	{ Krainer	43,85	0,124	(Abb. 21)
			{ Kreuzung	41,60	0,169	
Radialzelle, Flächeninhalt	} ↔	Flügel­länge	{ Krainer	37,11	0,259	
				{ Kreuzung	43,43	

Breite des Flügels

Die Flügellänge korreliert bei allen 3 Gruppen mit der Flügelbreite.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Flügellänge $\leftrightarrow$ Flügelbreite	Krainer	43,05	0,175
	Italiener	40,22	0,196
	Kreuzung	46,05	0,080



Abb. 21. 8. Umordnung der Kreuzung. Leitmerkmal: Flächeninhalt der Radialzelle (rad. Flä.); positiv korrelierend = Breite der Radialzelle (rad. Breite), Länge der Radialzelle (rad. Länge)

Der *Flächeninhalt der Radialzelle* ist vor allem von der *Breite* der Zelle abhängig.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Radialzelle, } $\leftrightarrow$ Breite der } Flächeninhalt } Radialzelle }	Krainer	36,94	0,222
	Italiener	45,52	0,090
	Kreuzung	33,53	0,330 (Abb. 21)

Eine Beziehung zwischen der *Flügelbreite* und sowohl der *Breite* als auch dem *Flächeninhalt* der Radialzelle besteht nur bei den Krainer Bienen.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Flügelbreite $\leftrightarrow$ {	Breite der Radialzelle } Krainer	45,59	0,089
	Radialzelle, Flächeninhalt } Krainer	42,08	0,159

Dagegen tritt bei den Italiener Bienen eine Korrelation zwischen der *Flügelbreite* und der *Länge der Radialzelle* auf, während die Flügelbreite bei der Kreuzung in schwacher Korrelation zu *a'* steht.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Flügelbreite $\leftrightarrow$ {	Länge der Radialzelle } Italiener	45,85	0,083
	<i>a'</i> } Kreuzung	49,33	0,012

Cubitalzelle

Völlig unabhängig von Längen- und Breitenausdehnung des Flügels verhalten sich die Merkmale der Cubitalzelle. Bei den Italiener Bienen steht *kein Merkmal* der Cubitalzelle in einer Beziehung zu irgendeinem anderen. Die Krainer Rasse dagegen weist eine Korrelation zwischen dem *Flächeninhalt* der Cubitalzelle und der Länge der Strecke *a* auf.

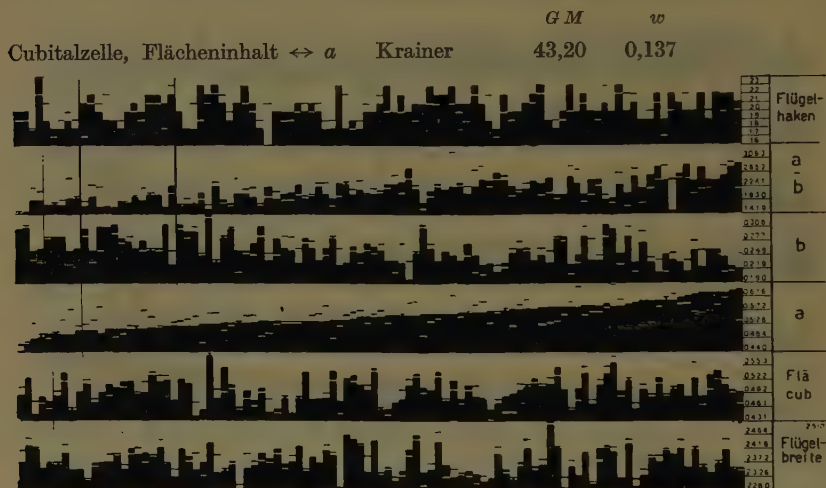


Abb. 22. 2. Umordnung der Kreuzung. Leitmerkmal = *a*. Negativ korrelierend = *b*; positiv korrelierend = *a:b*

Nur bei der Kreuzung ist eine negative Korrelation zwischen den Strecken *a* und *b* nachzuweisen.

	<i>G M</i>	<i>w</i>
$a \leftrightarrow b$ Kreuzung	- 47,28	- 0,054 (Abb. 22)

Es wäre interessant festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen den Merkmalen der Cubitalzelle und der Diagonalausdehnung des Flügels, die in etwa der Längsausdehnung der Cubitalzelle parallel läuft, besteht.

Flügelhaken

Die Anzahl der *Flügelhaken* steht bei der Krainer Rasse und der Kreuzung in keiner Beziehung zu anderen Merkmalen. Nur bei der Italiener Rasse scheinen sie mit der *Länge der Radialzelle* schwach zu korrelieren

	<i>G M</i>	<i>w</i>
Flügelhaken $\leftrightarrow$ Länge der Radialzelle } Italiener	47,26	0,050

b) *Korrelative Beziehungen zwischen den Merkmalen des Kopfes.* Eine schwache Korrelation zwischen der Länge des 2. Labialtastergliedes und der *Kopfbreite* war nur bei der Kreuzung festzustellen.

		<i>GM</i>	<i>w</i>
Kopfbreite ↔ Labialtaster	Kreuzung	48,00	0,041

c) *Beziehungen zwischen den Merkmalen der Ferse.* Hinsichtlich dieser Merkmale verhalten sich die Krainer und Italiener Bienen völlig verschieden.

Bei den *Krainern* besteht eine schwache Korrelation zwischen Fersenbreite und der Länge des Sporns,



Abb. 23. 16. Umordnung der Kreuzung. Leitmerkmal = Fersenbreite; positiv korrelierend = Fersenlänge und Sporn

während bei den *Italienern* die Länge und Breite der Ferse miteinander korrelieren.

		<i>GM</i>	<i>w</i>
Fersenlänge ↔ Fersenbreite	Italiener	43,73	0,126

Bei der *Kreuzung* kommen sowohl die gleichen Korrelationen wie bei den beiden Ausgangsrassen vor, wie auch eine sehr geringe Beziehung zwischen Fersenlänge und Sporn.

Fersenbreite ↔ Sporn	} Kreuzung	38,61	0,228	(Abb. 23)
Fersenlänge ↔ Fersenbreite		45,20	0,097	(Abb. 23)
Fersenlänge ↔ Sporn		48,04	0,040	

d) *Korrelative Beziehungen zwischen den Merkmalen des Abdomen.* Sowohl bei den beiden Rassen als auch bei der Kreuzung besteht ein Zusammenhang zwischen den jeweiligen Maßen des 2. und 3. Abdomensegmentes. Es korrelieren also stets die *Länge des 2. Tergit* mit der *Länge des 3. Tergit* oder die *Breite des 2. Sternit* mit der des 3. Die Italiener

Bienen bilden jedoch in bezug auf die Länge der beiden Sternite eine Ausnahme.

			<i>GM</i>	<i>w</i>	
Tergit 2 ↔ Tergit 3	{	Krainer	41,94	0,162	(Abb. 24)
		Italiener	46,44	0,072	
		Kreuzung	40,36	0,194	
Sternit 2, Breite ↔ Sternit 3, Breite	{	Krainer	44,06	0,106	
		Italiener	43,33	0,134	
		Kreuzung	32,73	0,346	
Sternit 2, Länge ↔ Sternit 3, Länge	{	Krainer	46,70	0,067	
		Kreuzung	31,57	0,369	

Eine Beziehung zwischen der *Länge und Breite* des 2. Sternit besteht bei keiner der 3 Gruppen. Auch für den 3. Sternit ist eine solche nur bei den Krainer Bienen nachzuweisen.

		<i>GM</i>	<i>w</i>
Sternit 3, Breite ↔ Sternit 3, Länge	Krainer	38,01	0,241

Dagegen korreliert der *Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels* in starkem Maße mit der *Breite* des Sternit.

			<i>GM</i>	<i>w</i>	
Wachsspiegel 3, Flächeninhalt	} ↔ Sternit 3, Breite	{ Krainer	22,89	0,543	(Abb. 24)
		{ Italiener	36,48	0,271	
		{ Kreuzung	30,78	0,383	

Zwischen dem *Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels* und der *Länge des 3. Sternit* besteht jedoch ein viel geringerer Zusammenhang und zwar auch nur bei den Krainer und Italiener Bienen.

			<i>GM</i>	<i>w</i>
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	} ↔ Sternit 3, Länge	{ Krainer	44,93	0,102
		{ Italiener	43,69	0,127

Korrelationen zwischen den dorsalen und ventralen Merkmalen des Abdomen treten nur bei der Krainer Rasse und der Kreuzung auf.

Bei den *Krainern* besteht eine Beziehung zwischen der Länge des 2. und 3. Tergit und jeweils allen Maßen des 3. Sternit.

			<i>GM</i>	<i>w</i>
Tergit 2 ↔	{	Sternit 3, Breite	40,24	0,196
		Sternit 3, Länge	47,89	0,043
		Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	43,96	0,122
Tergit 3 ↔	{	Sternit 3, Breite	43,87	0,124
		Sternit 3, Länge	45,12	0,098
		Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	40,87	0,183

Bei der *Kreuzung* hingegen ist zwar die Länge des 3. Tergit mit Breite und Flächeninhalt des 3. Sternit korreliert, nicht aber, wie bei der Krainer Rasse, mit seiner Länge (Abb. 24).

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Tergit 3 ↔	Sternit 3, Breite	48,40	0,033
	Wachsspigel 3,	Kreuzung	46,06
	Flächeninhalt		

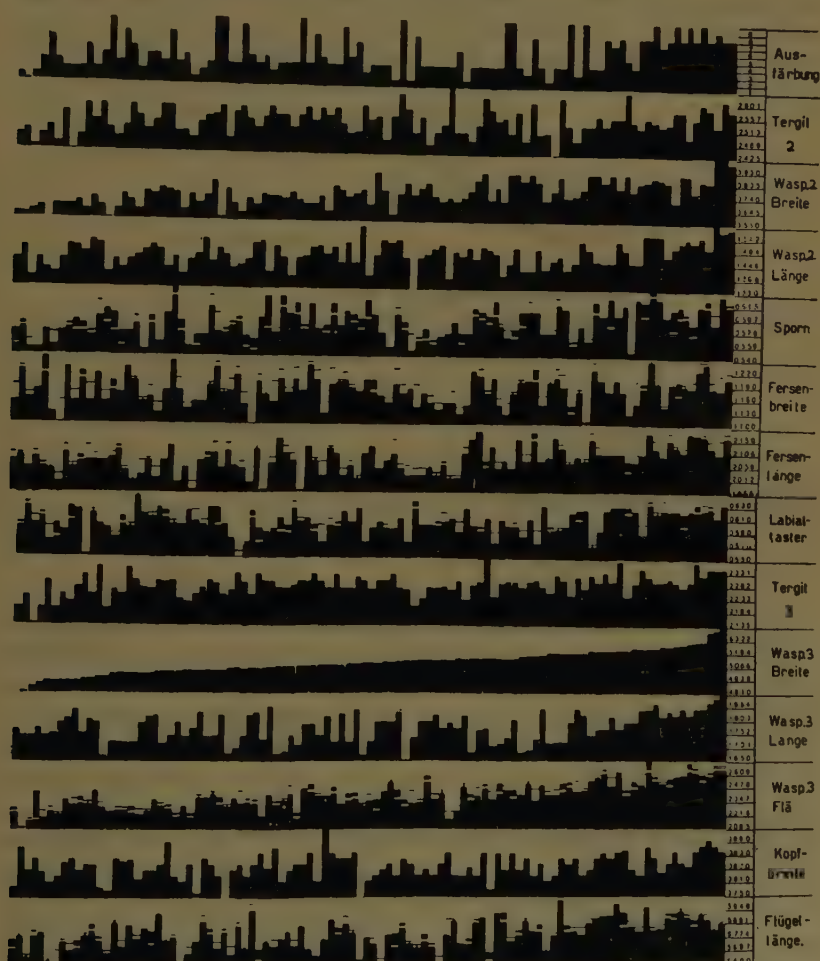


Abb. 24. 23. Umordnung der Kreuzung. Leitmerkmal = Breite des 3. Sternit; (Wasp. 3. Breite); positiv korrelierend = Breite des 2. Sternit (Wasp. 2. Breite), Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels (Wasp. 3 Flä.), Tergit 3

Eine Beziehung zwischen der Breite des 2. Sternit und dem Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels ließ sich nur bei der Kreuzung nachweisen.

		<i>G M</i>	<i>w</i>
Sternit 2, Breite	Wachsspigel 3,	Kreuzung	42,65
	Flächeninhalt		

e) *Beziehungen zwischen den einzelnen Merkmalsgruppen.* Während sich in bezug auf die Korrelationen *innerhalb* der einzelnen *Merkmalsgruppen* eine gewisse Übereinstimmung bei den beiden Rassen und der Kreuzung zeigt, sind die Beziehungen *zwischen* den Gruppen bei ihnen sehr verschieden. Die auftretenden Korrelationen werden daher für jede Rasse und für die Kreuzung gesondert behandelt.

α) *Krainer Rasse*

Hier sind es vor allem *Flügelänge* und *Kopfbreite*, die mit Merkmalen anderer Merkmalsgruppen korrelieren.

			<i>GM</i>	<i>v</i>
Flügelänge ↔	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Kopfbreite} \\ \text{Ferslänge} \\ \text{Wachsspiegel 3,} \\ \text{Flächeninhalt} \\ \text{Sternit 3, Breite} \\ \text{Tergit 2} \\ \text{Tergit 3} \end{array} \right\}$	} Krainer	40,39	0,193
			46,90	0,063
			39,37	0,206
			40,01	0,200
			41,28	0,175
			40,59	0,189
Kopfbreite ↔	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Flügelänge} \\ \text{Länge der} \\ \text{Radialzelle} \\ \text{Wachsspiegel 3,} \\ \text{Flächeninhalt} \\ \text{Sternit 3, Breite} \\ \text{Sternit 3, Länge} \end{array} \right\}$	} Krainer	40,39	0,193
			49,56	0,010
			40,37	0,188
			33,40	0,333
			48,75	0,025

Die Merkmale, die vor allem ein Ausdruck für die Körpergröße sind, wie *Flügelänge*, *Kopfbreite*, *Ferslänge* und die Merkmale des *Abdomen*, stehen bei den Krainer Bienen in einem engen korrelativen Zusammenhang. Demnach bleiben bei kleinen oder großen Tieren der Rasse die Körperproportionen die gleichen. Eine Ausnahme davon bilden jedoch die Merkmale des 2. Sternit. Sie weisen weder zur Flügelänge oder Kopfbreite noch zu den Maßen der beiden Tergite eine Beziehung auf. Die Kopfbreite steht außerdem in Korrelation zur Länge der Radialzelle. Da diese aber wiederum mit der Flügelänge korreliert, ist sie ebenfalls zu den Merkmalen zu zählen, deren Größe bereits etwas über die allgemeine Körpergröße aussagt.

β) *Italiener Rasse*

Bei den Italiener Bienen sind nur wenige Korrelationen zwischen den einzelnen Merkmalsgruppen festzustellen. Es fehlt vor allem jegliche Beziehung zwischen der Flügelänge und den Merkmalen des Abdomen. Auch Flügelänge und Kopfbreite sind in ihrer Größe völlig unabhängig voneinander. Die Korrelation zwischen Ferslänge und Flügelänge hingegen liegt auch hier vor, ebenso die zwischen Kopfbreite und sowohl der Breite des 3. Sternit als auch dem Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels.

			<i>GM</i>	<i>w</i>	
Fersenlänge	↔	Flügelänge	Italiener	46,97	0,061
Kopfbreite	↔	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Sternit 3, Breite} \\ \text{Wachsspiegel 3,} \\ \text{Flächeninhalt} \end{array} \right\}$	Italiener	45,14	0,098
				49,75	0,006

Nur bei der Italiener Rasse treten die Korrelationen zwischen *Fersenlänge* und *Länge der Radialzelle* und der Fersenlänge und dem *Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels* auf.

			<i>GM</i>	<i>w</i>
Fersenlänge ↔	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Länge der} \\ \text{Radialzelle} \\ \text{Wachsspigel 3,} \\ \text{Flächeninhalt} \end{array} \right\}$	Italiener	46,07	0,079
			47,47	0,051

γ) Kreuzung

Bei der Kreuzung sind es vor allem 3. Tergit und 3. Sternit, die zu Merkmalen anderer Merkmalsgruppen eine Beziehung aufweisen.

			<i>GM</i>	<i>w</i>
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	↔	Flügelänge	49,61	0,008
Sternit 3, Breite	↔	Flügelbreite	46,60	0,069
Sternit 3, Länge	↔	Labialtaster	46,25	0,076
Tergit 3	↔	{ Kopfbreite	48,14	0,038
		{ Sporn	48,49	0,031

Eine Korrelation zwischen Flügelänge und Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels ist ebenfalls bei der Krainer Rasse nachweisbar. Die anderen oben angeführten Korrelationen, die ja keine hohen Werte aufweisen, treten nur bei den Bienen der Kreuzung auf.

Die *Ausfärbung* des Abdomen ist bei der *Kreuzung* nur mit dem *Flächeninhalt des 3. Wachsspiegels* korreliert; bei einer dunkleren Biene ist demnach die Fläche des Wachsspiegels *größer* als bei einer heller ausfärbten Biene. Es wäre interessant, festzustellen, ob sich dieser Größenunterschied auch auf die Menge des ausgeschiedenen Wachses und auf die Größe der Wachsplättchen auswirkt.

			<i>GM</i>	<i>w</i>
Ausfärbung ↔	Wachsspiegel 3,	} Kreuzung	43,23	0,137
	Flächeninhalt }			

4. Gegenüberstellung der Korrelationen der Krainer und Italiener Rasse. Nach der Darstellung der korrelativen Beziehungen der Merkmale bei den beiden Rassen und der Kreuzung, die ein allgemeines Bild gibt über den Zusammenhang der Merkmale innerhalb der Merkmalsgruppen und darüber hinaus, sind nunmehr die *Unterschiede* zwischen der Krainer und Italiener Rasse herauszustellen. Eine Übersicht über die nur bei *einer* der beiden *Rassen* nachweisbaren *Korrelationen* ohne Berücksichtigung der Kreuzung, gewinnt man am besten an Hand von Tabellen.

Die folgende Tabelle gibt an, welche Korrelationen jeweils für die Krainer oder die Italiener Rasse typisch sind.

<i>Krainer Rasse</i>			<i>G M</i>	<i>m</i>	
Flügelänge	$\leftrightarrow$	{	Radialzelle, Flächeninhalt	37,11	0,259
			Kopfbreite	40,39	0,193
			Sternit 3, Breite	40,01	0,200
			Wachsspiegel 3, Flächeninhalt	39,37	0,206
			Tergit 2	41,28	0,175
			Tergit 3	40,59	0,189
Länge der Radialzelle	$\leftrightarrow$		Radialzelle, Flächeninhalt	43,85	0,124
Flügelbreite	$\leftrightarrow$	{	Radialzelle, Flächeninhalt	42,08	0,159
			Breite der Radialzelle	45,59	0,089
Cubitalzelle, Flächeninhalt	$\leftrightarrow$	<i>a</i>	43,20	0,137	
Kopfbreite	$\leftrightarrow$	{	Länge der Radialzelle	49,56	0,010
			Sternit 3, Länge	48,75	0,025
Fersenbreite	$\leftrightarrow$		Sporn	47,30	0,054
Sternit 2, Länge	$\leftrightarrow$		Sternit 3, Länge	46,70	0,067
Sternit 3, Breite	$\leftrightarrow$		Sternit 3, Länge	38,01	0,241
Tergit 3	$\leftrightarrow$	{	Sternit 3, Breite	43,87	0,124
			Sternit 3, Länge	45,12	0,098
			Wachsspiegel 3, Flächeninhalt	40,87	0,183
Tergit 2	$\leftrightarrow$	{	Sternit 3, Breite	40,24	0,196
			Sternit 3, Länge	47,89	0,043
			Wachsspiegel 3, Flächeninhalt	43,96	0,122
<i>Italiener Rasse</i>					
<i>a'</i>	$\leftrightarrow$	<i>b'</i>	—	41,69	—0,119
Radiallänge	$\leftrightarrow$	{	Flügelbreite	45,85	0,083
			Flügelhaken	47,26	0,050
			Fersenlänge	46,07	0,079
Fersenlänge	$\leftrightarrow$		Fersenbreite	43,73	0,126

Auffallend ist, daß die Italiener Rasse gegenüber der Krainer nur wenige Korrelationen aufweist. Diese beschränken sich auf Merkmale des Flügels und der Ferse, während bei der Krainer Rasse in der Hauptsache korrelative Beziehungen zwischen Merkmalen des Abdomen auftreten.

Für die *Italiener Rasse* ist vor allem die *negative* Korrelation zwischen den Strecken *a'* und *b'* der Radialzelle als charakteristisch anzuführen. Diese und die besonderen Größenverhältnisse der beiden Strecken, wie sie aus dem Vergleich der Mittelwerte hervorgingen, bezeichnen die für die Italiener Rasse typische Form der Radialzelle (Abb. 9). Die Korre-

lation besagt, daß mit der Länge der Strecke a' und demnach auch mit der Länge des Flügels (Tabelle S. 304), die Strecke b' nicht proportional mitwächst, sondern kleiner wird. Der nach der Mitte des Flügels zu liegende Teil der Radialzelle ist also bei einem langen Flügel kleiner als bei einem kürzeren.

Bemerkenswert ist auch die Korrelation zwischen der *Länge der Radialzelle* und der Zahl der *Flügelhaken*, da bisher eine korrelative Beziehung zwischen der stark variierenden Anzahl der Haken und irgendeinem anderen Merkmal nicht nachgewiesen werden konnte. Auch für die *durchschnittliche* Zahl der Flügelhaken hatte sich ja aus der Berechnung der Mittelwerte ergeben, daß ihre Anzahl bei der Italiener Rasse größer ist als bei der Krainer.

Überdies steht die *Länge der Radialzelle* zu der *Breite des Flügels* und zu der *Fersenzlänge* in positiver Korrelation (Abb. 13). Die Länge der Radialzelle hat also für die Italiener Rasse durch mehrere, nur hier vorkommende korrelative Beziehungen eine besondere Bedeutung. Außerdem besteht, im Gegensatz zu der Krainer Rasse, eine Abhängigkeit zwischen der Länge und Breite der Ferse.

Bezeichnend für die *Krainer Rasse* sind vor allem die Beziehungen der *Flügelänge* zu *Kopfbreite* und zu mehreren Merkmalen des *Abdomen*. Daneben besteht ein Zusammenhang zwischen der Länge des 2. und 3. *Tergit* und allen 3 Merkmalen des 3. *Sternit*. Im Gegensatz zu der Italiener Rasse, bei der zwischen den einzelnen Körperteilen, wie Flügel und Abdomen, keine Korrelationen auftreten, zeigt die Krainer Rasse also einen engen Zusammenhang zwischen den einzelnen Körperteilen der Bienen. Eine Biene mit langem Flügel hat einen breiten Kopf und ein breites, langes Abdomen. Die Beziehung zwischen Flügelänge und Fersenzlänge besteht jedoch bei den beiden Rassen in gleicher Weise.

Der *Flächeninhalt der Radialzelle*, der bei allen 3 Gruppen von der Breite der Zelle abhängt, ist bei der Krainer Rasse in demselben Maße von der *Länge des Flügels* und der *Radialzelle* und ebenso von der *Flügelbreite* abhängig. Die Korrelation zwischen Flügelbreite und der Breite der Radialzelle, die man bei allen 3 Gruppen vermuten könnte, ist nur hier zu beobachten. Ebenso zeigt es sich, daß nur bei den Krainer Bienen ein Zusammenhang zwischen dem *Flächeninhalt der Cubitalzelle* und der Größe der Strecke a besteht. Besonders hervorzuheben ist außerdem die korrelative Beziehung zwischen der *Fersenzlänge* und der *Länge des Sporns*.

Auch die Korrelationsanalyse zeigt also, daß ein erheblicher Unterschied zwischen der Krainer und der Italiener Rasse besteht. Man kann sie keinesfalls, wie man auf Grund der Untersuchungen GOETZES schließen konnte, als „nahe zusammengehörend“ bezeichnen oder gar die Italiener Rasse als „gelbe Ausgabe“ der Krainer ansehen. Im Gegenteil, gerade durch die Korrelationsanalyse konnte nachgewiesen werden, daß

zwischen ihnen nicht nur eine Verschiedenheit der Größe und Form besteht, wie der Vergleich der Mittelwerte ergab, sondern daß jede der beiden Rassen ein für sie typisches Größenverhältnis der einzelnen Merkmale zueinander zeigt. Daraus ergeben sich die charakteristischen Körperproportionen der Krainer und der Italiener Rasse.

5. Die Korrelationen der Kreuzung und ihrer Ausgangsrassen. In der folgenden Tabelle sind die Korrelationen angegeben, die bei der Kreuzung und einer ihrer Ausgangsrassen auftreten. Abschließend werden die Korrelationen angeführt, die *nur* bei der Kreuzung vorkommen.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die *Kreuzung* in bezug auf Korrelationen weit mehr mit der Krainer Rasse übereinstimmt und nur in der Beziehung zwischen Fersenlänge und -breite sich wie die Italiener Rasse verhält.

Tabelle 7

Merkmal	Korrelierendes Merkmal	Kreuzung		Italiener		Krainer	
		<i>GM</i>	<i>w</i>	<i>GM</i>	<i>w</i>	<i>GM</i>	<i>w</i>
Radialzelle, Flächeninhalt } ↔ {	Flügelänge .	43,43	0,132	—	—	37,11	0,259
	Länge der Radialzelle	41,60	0,169	—	—	43,85	0,124
Flügelänge ↔	Wachsspiegel 3, Flächeninhalt }	49,61	0,008	—	—	39,37	0,206
Fersenbreite ↔	Sporn	38,61	0,228	—	—	47,30	0,054
Sternit 2, Länge ↔	Sternit 3, Länge .	31,57	0,369	—	—	46,70	0,067
Tergit 3 ↔ {	Sternit 3, Breite	48,40	0,033	—	—	43,87	0,124
	Wachsspiegel 3, Flächeninhalt	46,06	0,083	—	—	40,87	0,183
Fersenlänge ↔	Fersenbreite . .	45,20	0,097	43,73	0,126	—	—
Flügelbreite ↔ {	<i>a'</i>	49,33	0,012	—	—	—	—
	Sternit 3, Breite	46,60	0,069	—	—	—	—
<i>a</i> ↔	<i>b</i>	47,28	0,054	—	—	—	—
Kopfbreite ↔ {	Tergit 3 . . .	48,14	0,038	—	—	—	—
	Labaltaster .	48,00	0,041	—	—	—	—
Labaltaster ↔	Sternit 3, Länge .	46,25	0,076	—	—	—	—
Sporn ↔ {	Fersenlänge . .	48,04	0,040	—	—	—	—
	Tergit 3 . . .	48,49	0,031	—	—	—	—
Sternit 2, Breite ↔	Wachsspiegel 3, Flächeninhalt }	42,65	0,150	—	—	—	—

Innerhalb des Flügels zeigt sich bei der Kreuzung dieselbe Abhängigkeit des Flächeninhalts der Radialzelle von der Länge des Flügels und der Radialzelle wie bei den Krainern. Dies ergänzt die Ergebnisse der Mittelwertberechnung, aus denen hervorgeht, daß die Kreuzung in allen Merkmalen der Radialzelle mehr der Krainer Rasse näher kommt.

In bezug auf die *Flügelbreite* ergab sich jedoch aus den Durchschnittswerten eine Annäherung an die Italiener Rasse. Dies wird insoweit hier bestätigt, als die bei den Krainer Bienen auftretenden Korrelationen zwischen *Flügelbreite* und *Breite* und *Flächeninhalt der Radialzelle* weder bei den Italienern noch bei der Kreuzung vorkommen. Außerdem entsprechen sich in gewisser Weise die Korrelationen zwischen *Flügelbreite* und *Länge der Radialzelle* (Abb. 13) der Italiener und die zwischen *Flügelbreite* und *a'* der Kreuzung.

Hinsichtlich der Merkmale des Abdomen sind jedoch die Ergebnisse der Korrelationsanalyse nicht mit denen der Mittelwertberechnung zu vergleichen. Im Gegensatz zu der weitgehenden Übereinstimmung der Durchschnittswerte dieser Merkmale bei Kreuzung und Italiener Rasse verhält sich die Kreuzung hinsichtlich der Korrelationen der Abdomenmerkmale hauptsächlich wie die Krainer Bienen. Die *Länge des 3. Tergit* korreliert sowohl bei der Krainer Rasse als auch bei der Kreuzung mit der *Breite des 3. Sternit* und dem *Flächeninhalt des 3. Wachspiegels*. Auch die *Flügelänge* zeigt bei beiden einen korrelativen Zusammenhang mit dem *Flächeninhalt des 3. Wachspiegels*.

Von den Korrelationen zwischen den Merkmalen der Ferse sind bei der Kreuzung sowohl die Beziehung von *Ferslänge* und *-breite* der Italiener, als auch die zwischen *Fersbreite* und *Sporn* der Krainer Rasse nachweisbar.

Bei genauerer Untersuchung der Tabellen zeigt sich, daß man aus der Anzahl der bei der *Kreuzung* und einer der *Ausgangsrasen* gemeinsam vorkommenden *Korrelationen* noch nicht auf eine größere oder geringere Übereinstimmung mit einer der beiden Rassen schließen kann. Dies wäre nur dann möglich, wenn bei Krainern und Italienern eine gleich große Anzahl von Korrelationen aufträte. Da es aber für die Italiener Rasse gerade charakteristisch ist, daß sie nur wenige Korrelationen aufweist im Gegensatz zu den Krainern, so zeigt sich eine Übereinstimmung zwischen ihr und der Kreuzung hauptsächlich in dem *Nichtvorkommen* von korrelativen Beziehungen, die für die Krainer Rasse typisch sind. So fehlen bei den Italienern und der Kreuzung vor allem die Beziehungen von *Flügelänge* zu *Kopfbreite* und der *Länge der beiden Tergite* und die zwischen *2. Tergit* und allen Merkmalen des *3. Sternit*.

Ein *Überwiegen* der Korrelationen einer Ausgangsrasse bei der Kreuzung, das sich aus einem ersten Überblick über die Tabelle ergab, kann also bei genauerer Untersuchung *nicht* festgestellt werden.

Von den *nur* bei der *Kreuzung* vorkommenden Korrelationen ist vor allem die negative Beziehung der Strecken *a* und *b* der Cubitalzelle zueinander bemerkenswert. Das Größenverhältnis dieser Strecken wurde bisher am häufigsten untersucht. Man hat sich jedoch nie mit der Frage beschäftigt, ob eine Korrelation zwischen ihnen bestehen

könnte. Die hier festgestellte *negative Korrelation* besagt, daß mit größer werdendem a b sich verkleinert und umgekehrt. Das Verhältnis zwischen den beiden Strecken, der Cubitalindex, $a:b$, muß also bei der großen Variabilität von a und b in weitem Ausmaß von niedrigen zu hohen Werten schwanken. In diesem Falle, der hier allerdings nur für die Kreuzung zutrifft, ist die Verwendung des Index zur Rassenanalyse und -unterscheidung sehr problematisch.

Überdies ist die Beziehung von der Länge des 2. Labialtastergliedes zu der Kopfbreite und der Länge des 3. Sternit zu erwähnen. Auch diese Korrelationen konnten nur für die Kreuzung nachgewiesen werden. Die von GOETZE (1940) als „offensichtlich“ bezeichnete Korrelation zwischen Labialtaster und den „Gliedlängen der eigentlichen Extremitäten“ wurde dagegen weder bei einer der beiden Rassen noch bei der Kreuzung festgestellt.

Die folgenden Tabellen geben noch einmal eine Übersicht über die bei allen drei Gruppen nachgewiesenen Korrelationen, sowie über die bei den beiden Rassen, nicht aber bei der Kreuzung vorkommenden Beziehungen.

Tabelle 8. Bei allen drei Gruppen vorkommende Korrelationen

Merkmal	Korrelierendes Merkmal	Krainer		Italiener		Kreuzung	
		GM	w	GM	w	GM	w
Flügelänge	$\leftrightarrow$ { Länge der Radialzelle }	24,60	0,504	30,13	0,398	29,68	0,407
	$\leftrightarrow$ { a' }	33,86	0,318	41,81	0,165	42,30	0,156
	$\leftrightarrow$ { Flügelbreite . . }	43,05	0,175	40,22	0,196	46,05	0,080
Länge der Radialzelle	$\leftrightarrow$ a'	38,67	0,227	31,00	0,375	37,41	0,253
Breite der Radialzelle	$\leftrightarrow$ { Radialzelle, Flächeninhalt }	36,94	0,222	45,52	0,090	33,53	0,330
Sternit 2, Breite	$\leftrightarrow$ Sternit 3, Breite	44,06	0,106	43,33	0,134	32,73	0,346
Sternit 3, Breite	$\leftrightarrow$ { Wachsspiegel 3, Flächeninhalt }	22,89	0,543	36,48	0,271	30,78	0,383
Tergit 2	$\leftrightarrow$ Tergit 3	41,94	0,162	46,44	0,072	40,36	0,194

Tabelle 9. Bei der Krainer und Italiener Rasse vorkommende Korrelationen

Merkmal	Korrelierendes Merkmal	Krainer		Italiener	
		GM	w	GM	w
Kopfbreite	$\leftrightarrow$ { Sternit 3, Breite }	33,40	0,333	43,14	0,098
	$\leftrightarrow$ { Wachsspiegel 3, Flächeninhalt }	40,37	0,188	49,75	0,006
Fersenlänge	$\leftrightarrow$ Flügelänge . . .	46,90	0,063	46,97	0,061
Sternit 3, Länge	$\leftrightarrow$ { Wachsspiegel 3, Flächeninhalt }	44,93	0,102	43,69	0,127

F. Berechnung des Korrelationsgrades an nur 50 Tieren

Für die praktische Bienenzüchtung wäre es sehr wünschenswert, bereits aus einer *geringen Anzahl* von *Messungen* die Variabilität sowie auch die korrelativen Beziehungen der Merkmale ermitteln zu können. Da bei der Berechnung des arithmetischen Mittels die Größe des Zahlenmaterials berücksichtigt und der zufällige Fehler berechnet wird, ist hier nur zu prüfen, ob und inwieweit sich bei der hier erstmalig durchgeführten Berechnung des „graphischen Mittels“ (*GM*) der Korrelationsgrad ändert, wenn er aus einer *verschieden großen Zahl* von *Meßdaten* gewonnen wird.

Zum Vergleich mit den vorhergehenden Ergebnissen, die alle auf 100 Messungen basieren, wurden einige Berechnungen mit nur 50 Werten durchgeführt. Es wurden die Maße der Tiere Nr. 57-106 der Italiener Rasse zugrunde gelegt; die Stichprobe ist *zufällig* zusammengesetzt.

Bereits aus den *Umordnungskurven* (Abb. 25) geht hervor, daß sowohl bei 50 wie auch bei 100 Werten die *gleichen korrelativen Zusammenhänge* zwischen den Merkmalen zu erkennen sind. Der *Anstieg* der Kurven, vor allem von Wasp. 3 Breite (Breite des 3. Sternit), ist bei beiden Darstellungen deutlich ersichtlich. (Als Beispiel wird je eine Umordnungstabelle von 50 und 100 Tieren gegeben.)

Die Ergebnisse der Berechnungen sind in folgender Tabelle angeführt.

Merkmal	Korrelierendes Merkmal	50 Tiere		100 Tiere	
		<i>GM</i>	<i>w</i>	<i>GM</i>	<i>w</i>
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt	↔ Sternit 3, Breite	31,85	0,364	36,48	0,271
Flügelänge	↔ Flügelbreite . .	37,44	0,252	40,22	0,196
Flügelänge	↔ Fersenlänge . .	45,25	0,096	46,97	0,061
Fersenlänge	↔ Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt }	41,99	0,178	47,47	0,051
Kopfbreite	↔ Sternit 3, Breite	41,57	0,169	45,14	0,098

Die aus 50 Meßdaten errechneten Werte des *graphischen Mittels* sind niedriger als die entsprechenden der 100 Tiere, der Grad der Korrelation ist demnach bei ihnen höher.

Der Fehler, der bei der Berechnung des Korrelationsgrades *GM* aus einer geringen Anzahl von Meßdaten auftritt, läßt also die vorhandene korrelative Beziehung höher erscheinen, als sie sich bei der genaueren Berechnung aus größerem Material ergibt.

Außerdem wurden aus den Maßen von 190 Krainer Bienen eine Korrelation berechnet und mit dem aus 100 Maßen errechneten Wert verglichen.



Abb. 25. 21. Umordnung der Italiener Rasse. Links = 100 Tiere; (Nr. 7—106), rechts = 50 Tiere desselben Materials (Nr. 57—106). Leitmerkmal = Flächeninhalt des 3. Wachspiegels (Wasp. 3 Flä.); positiv korrelierend = Sternit 3 Breite (Wasp. 3 Breite), Sternit 3 Länge (Wasp. 3 Länge), Kopfbreite

	190 Tiere		100 Tiere	
	<i>GM</i>	<i>w</i>	<i>GM</i>	<i>w</i>
Kopfbreite ↔ Flügellänge Krainer	41,88	0,163	40,39	0,193

Die Differenz dieser beiden Werte ist nur unwesentlich und zeigt, daß bei größerem Material eine kleinere oder größere Anzahl von Meßdaten keine große Bedeutung hat. Die Werte, die aus 50 und 100 Maßen gewonnen wurden, weisen dagegen eine viel größere Verschiedenheit auf.

Daraus folgt, daß man zwar bereits aus den Maßen von 50 Tieren eine Beziehung zwischen 2 Merkmalen erkennen kann, (dies würde zur Vororientierung in der Praxis genügen), daß aber einer genaueren Untersuchung die Maße von mindestens 100 Tieren zugrunde gelegt werden müssen.

G. Der Wert der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve als Maß der Variabilität

Der Wert der größten Abweichung (Gr. Abw.) von der geordneten Anstiegskurve, der bereits zum Berechnen des Korrelationsgrades GM benutzt wurde, drückt gleichzeitig aus, wie groß die *Variabilität* eines Merkmals ist. Ein *wenig variierendes Merkmal* weist nur wenige Extremwerte auf; die Größenwerte der meisten Tiere sind in etwa gleich. Die geordnete Anstiegskurve eines solchen Merkmals steigt, wie Schema Abb. 16, B zeigt, nur zu Beginn und zum Schluß stark an, in ihrem größten Abschnitt verläuft sie fast waagrecht. Der *Flächeninhalt der größten Abweichung* ist hier verhältnismäßig *gering*. Bei einem *stark variierenden Merkmal* hingegen steigt die geordnete Anstiegskurve sehr viel gleichmäßiger an (Schema Abb. 16, A), und der Flächeninhalt der größten Abweichung von der Anstiegskurve ist hier wesentlich *größer*. Je höher also der Wert der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve ist, desto stärker variiert ein Merkmal.

Die Werte sind jedoch nicht ohne weiteres miteinander *vergleichbar*, da die Kurven in einer verschiedenen Überhöhung gezeichnet sind. Rechnet man nun alle Werte der größten Abweichung derart um, daß jede Kurve von ihrem kleinsten zu ihrem größten Wert innerhalb von 4 cm in der Höhe gezeichnet wäre, so sind die so gewonnenen Werte miteinander zu vergleichen. Sie geben dann *unabhängig* von der *Größe des Merkmals* nur den Grad seiner *Variabilität* an.

Ein Vergleich des Wertes der größten Abweichung mit dem Streuungsmaß σ ist nicht möglich, da σ ein auf völlig andere Art und Weise gewonnener Wert ist, der zumeist nur in Zusammenhang mit dem Mittelwert betrachtet wird. Dieser und die Merkmalsgröße sind aber bei der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve als Maß der Variabilität völlig unberücksichtigt geblieben.

Der relative Wert für die Variabilität eines Merkmals, der Variabilitätskoeffizient V läßt sich ebenfalls nicht mit dem hier angewandten graphischen Variabilitätsmaß vergleichen, da in ihm die Berechnung des Mittelwertes und σ enthalten sind. Außerdem haben bei σ und V die Extremwerte durch das Quadrieren der Abweichungen stärkere Bedeutung, während die „größte Abweichung von der geordneten Anstiegskurve“ alle Werte in gleicher Weise berücksichtigt.

Der erhaltene Wert der größten Abweichung schließt jedoch, ebenso wie der Korrelationsgrad GM , den zufälligen Fehler, der bei jeder begrenzten Anzahl von Messungen auftritt, mit ein.

In der folgenden Tabelle sind die Werte der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve für jedes Merkmal der beiden Rassen und der Kreuzung angegeben. Die Merkmale sind bei jeder der 3 Gruppen vom kleinsten bis zum größten Wert angeordnet.

Die Variabilität der untersuchten Merkmale ist bei den *Italiener Bienen* am geringsten, bei den *Krainern* etwas höher und am stärksten bei den *Bienen der Kreuzung*. In diesem Punkte stimmen die Ergebnisse der beiden Berechnungsarten überein. Es kann jedoch hier nicht festgestellt werden, daß z. B. die Strecken innerhalb des Flügels stärker variieren als seine Gesamtlänge oder -breite, wie sich aus der Berechnung des Variabilitätskoeffizienten (S. 289) ergab. Außerdem zeigen die Werte der größten Abweichung von der geordneten Anstiegskurve keine derart hohe „Schwankungsbreite“ der Variabilitätsgrade wie die von V.

Tabelle 10

Kraimer Rasse		Italiener Rasse		Kreuzung	
Merkmal	Größte Abweichung	Merkmal	Größte Abweichung	Merkmal	Größte Abweichung
Sternit 2, Länge	24,14	<i>a'</i>	21,02	Tergit 3	24,65
Sporn	26,67	<i>b'</i>	21,92	Breite der Radialzelle }	28,89
Labialtaster	27,00	Länge der Radialzelle }	22,85	Sternit 3, Breite	29,75
Tergit 3	28,07	Flügelänge	23,82	Länge der Radialzelle }	30,32
Tergit 2	29,32	Kopfbreite	25,05	Flügelbreite	30,78
Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt }	29,65	Cubitalzelle, } Flächeninhalt }	26,96	Sternit 2, Länge	31,00
Sternit 2, Breite	29,85	Flügelhaken	27,00	Kopfbreite	31,56
<i>a</i>	29,91	Sporn	27,33	<i>b'</i>	32,65
Sternit 3, Breite	31,17	Flügelbreite	28,00	<i>a</i>	33,02
<i>b</i>	31,17	Sternit 2, Breite	28,52	Tergit 2	33,05
Länge der Radialzelle }	31,53	Tergit 2	28,72	Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt }	33,13
Sternit 3, Länge	32,12	<i>b</i>	28,84	Flügelänge	33,33
Breite der Radialzelle }	32,25	Radialzelle } Flächeninhalt }	29,00	Labialtaster	33,39
Kopfbreite	32,71	Fersenbreite	29,42	<i>a'</i>	33,45
<i>b'</i>	33,45	Fersenlänge	30,70	Flügelhaken	33,50
Flügelbreite	33,49	Breite der Radialzelle }	30,92	<i>b</i>	33,85
Radialzelle } Flächeninhalt }	33,66	Labialtaster	31,88	Cubitalzelle, } Flächeninhalt }	34,22
Flügelhaken	34,00	Sternit 3, Breite	32,42	Sternit 2, Breite	35,00
Fersenlänge	34,10	<i>a</i>	32,46	Radialzelle, } Flächeninhalt }	35,59
Flügelänge	35,53	Tergit 3	32,90	Fersenlänge	36,20
<i>a'</i>	38,45	Sternit 2, Länge	34,37	Sternit 3, Länge	36,67
Fersenbreite	38,78	Sternit 3, Länge	34,37	Fersenbreite	37,24
Cubitalzelle, } Flächeninhalt }	39,25	Wachsspiegel 3, } Flächeninhalt }	34,59	Sporn	42,94
				Ausfärbung	46,00

Bei den *Italiener Bienen* variieren vor allem die Merkmale des Flügels (s. Abb. 3) einschließlich der Anzahl der Flügelhaken sehr wenig. Nur die Strecke a der Cubitalzelle und die Breite der Radialzelle bilden eine Ausnahme. Die Werte für die Fersenmerkmale liegen etwa in der Mitte. Am stärksten variieren die Maße des Abdomen außer der Länge des 2. Tergit und der Breite des 2. Sternit.

Dagegen weisen bei der *Krainer Rasse* die Merkmale des Abdomen die geringste Variabilität auf. Ebenso Sporn und Labialtasterlänge. Von den Flügelmerkmalen variieren die Flügellänge und -breite, a' , die Flächeninhalte von Cubital- und Radialzelle und die Anzahl der Flügelhaken am meisten. Auch die Länge und Breite der Ferse weisen hohe Werte auf.

Die Merkmale der *Kreuzung* verhalten sich nicht so einheitlich innerhalb der Merkmalsgruppen. Nur die Maße der Ferse variieren sämtlich sehr stark. Besonders der Sporn weist einen sehr hohen Wert auf. In bezug auf Länge und Breite der Ferse und die Maße der Flächeninhalte von Cubital- und Radialzelle sind die Werte der Kreuzung in etwa mit denen der Krainer Rasse zu vergleichen. In allen anderen Merkmalen des Flügels und auch des Abdomen zeigt sich jedoch keine Übereinstimmung mit einer der beiden Ausgangsrassen.

H. Die Symmetrieverhältnisse der einzelnen Merkmale

PHILLIPS hatte 1927 bei seinen Untersuchungen nur eine *geringe Differenz* zwischen den *linken und rechten* Merkmalswerten festgestellt. Dagegen wies ALBER (1950) an allerdings geringem Material eine deutliche Asymmetrie des Cubitalindex und der Flügelhakenanzahl auf, während RUTTNER (1952) durch eingehende Analysen zeigte, daß zwar der Cubitalindex des Einzeltieres links und rechts differiert, die Durchschnittswerte genügend großer Proben jedoch für beide Seiten gleich sind.

Um dieses Problem bei einer größeren Anzahl von Merkmalen untersuchen zu können, wurden die Messungen aller betreffenden Merkmale *links* und *rechts* durchgeführt und jeweils beide Größenwerte in die graphische Darstellung der Umordnungskurven eingetragen (Abb. 12). Die geordneten Anstiegskurven der Merkmale lassen das Verhältnis zwischen linken und rechten Werten am deutlichsten erkennen; als Beispiel werden deshalb die nach steigender Größe geordneten Kurven aller links und rechts gemessenen Merkmale der Italiener Bienen gegeben (Abb. 26). Die Kurven der Krainer Rasse und der Kreuzung stellen sich in dieser Beziehung sehr ähnlich dar.

Aus der graphischen Darstellung ist ersichtlich, daß die *meisten* Merkmale *links* und *rechts* fast *gleich groß* ausgebildet sind und nur *einige* eine größere *Verschiedenheit* der Werte aufweisen. Dies sind bei allen 3 Gruppen vor allem die *Merkmale der Cubitalzelle*, die *Zahl der Flügelhaken* und

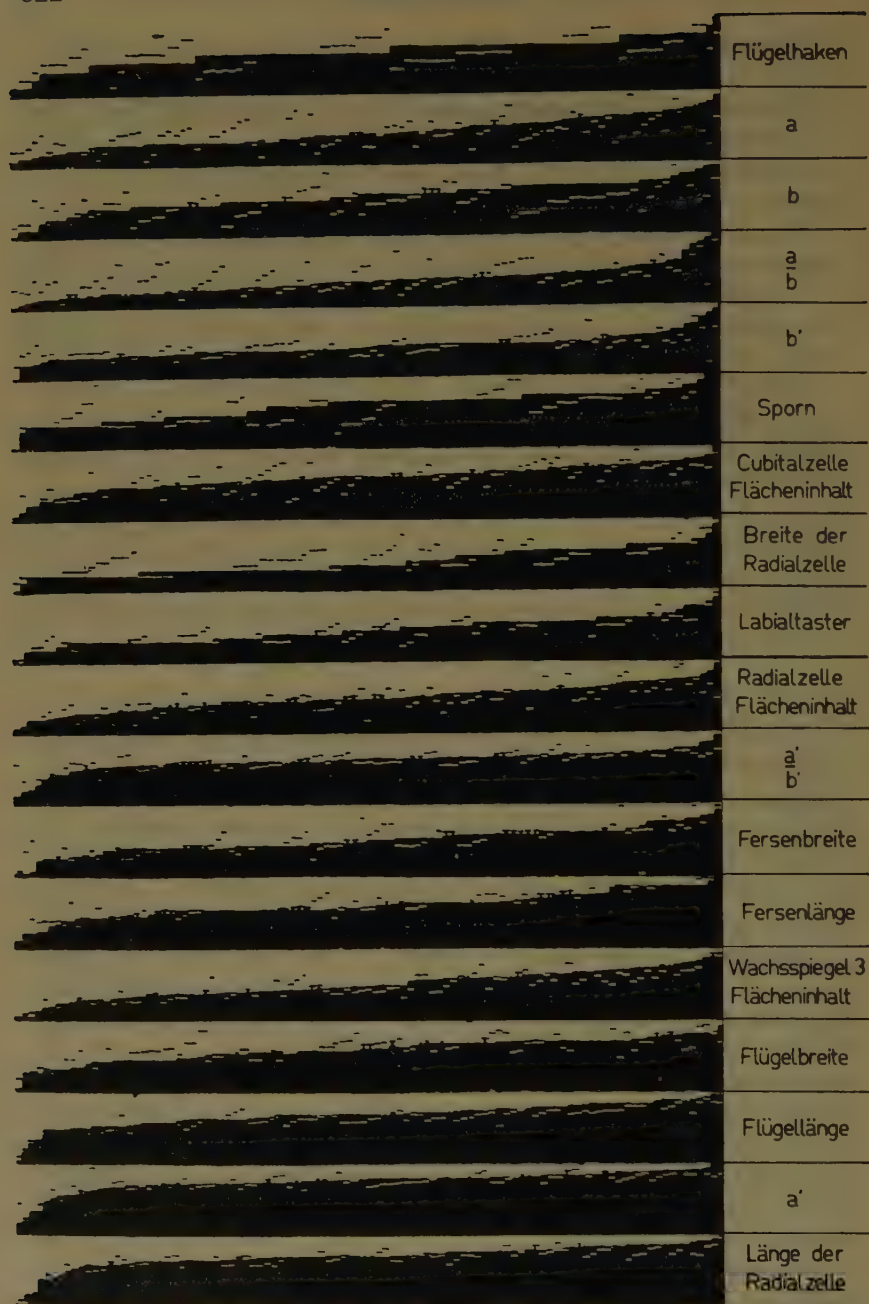


Abb. 26. Darstellung aller links und rechts gemessenen Merkmale der Italiener Rasse. Geordnete Anstiegskurven der linken Werte. Rechte Werte, wenn größer als die entsprechenden linken = schwarze Striche oberhalb, wenn kleiner = weiße Striche innerhalb der schwarzen Rechtecke. Die bei gleich großen Werten der linken Seite verschiedenen großen Werte der rechten Seite sind innerhalb dieses Abschnitts nach steigender Größe geordnet

die Strecke b' der Radialzelle. Dazu lassen bei den Italiener Bienen der *Sporn* und die *Breite der Radialzelle*, und bei der Kreuzung ebenfalls der *Sporn* eine größere Differenz zwischen den Werten der linken und rechten Seite erkennen.

Für die angeführten stärker differierenden Merkmale wurde der Grad der Korrelation zwischen linken und rechten Werten mit Hilfe der graphischen Form- und Korrelationsanalyse berechnet.

Von den anderen Merkmalen, die eine nur geringe Verschiedenheit zeigen, wurde als Beispiel die *Flügelänge* der Krainer Bienen gewählt und der Korrelationsgrad zwischen den Werten der beiden Seiten berechnet. Es ergab sich der sehr hohe Wert von 16,33 bzw. umgerechnet 0,674.

	GM	w
Krainer Rasse Flügelänge $\leftrightarrow$ links rechts	16,33	0,674

In etwa dieser Höhe liegen wohl die Werte aller anderen, links und rechts nur geringe Unterschiede aufweisenden Merkmale.

Für die stärker differierenden Merkmale ergaben sich folgende Korrelationen.

Tabelle 11

Merkmale	Krainer Rasse		Italiener Rasse		Kreuzung	
	GM	w	GM	w	GM	w
a	40,88	0,183	54,76	—0,124	44,87	0,103
b	46,98	0,061	53,28	—0,127	33,58	0,329
Cubitalzelle, } Flächeninhalt }	30,67	0,387	37,86	0,243	25,58	0,489
Flügelhaken	53,34	—0,066	55,99	—0,120	43,65	0,128
b'	39,46	0,211	48,90	0,023	28,45	0,432
Sporn			39,75	0,206	25,75	0,486
Breite der } Radialzelle }			34,18	0,317		

Wie aus den angeführten Werten hervorgeht, zeigen die Merkmale der Italiener Bienen eine größere Asymmetrie zwischen linker und rechter Seite als die der Krainer; bei der Kreuzung ist die Verschiedenheit der linken und rechten Werte am geringsten.

Da die errechneten Werte von GM für die Anzahl der Flügelhaken über 50 liegen und in diesem Falle, wie auf S. 300 bemerkt wurde, sehr schwache oder keine Korrelation vorliegt, und die umgerechneten Werte ein negatives Vorzeichen aufweisen, kann man eine Unabhängigkeit oder sogar eine schwache negative Beziehung vermuten. Dies scheint ebenfalls bei den Strecken a und b der Cubitalzelle der Italiener Bienen der Fall zu sein. Darin wird die Feststellung von ALBER (1950) hier bestätigt. Dagegen sind a und b der Krainer Rasse und der Kreuzung in ihrer

linken und rechten Ausbildung schwach korreliert. Bei allen 3 Gruppen ist jedoch die Links-Rechts-Verschiedenheit von Flügelhaken, *a* und *b* am größten.

Die Korrelation zwischen den Flächeninhalten der linken und rechten Cubitalzelle ist sowohl bei Krainern und Italienern als auch bei der Kreuzung verhältnismäßig hoch. Daraus geht hervor, daß selbst bei einer völligen Asymmetrie der Strecken *a* und *b* doch der Flächeninhalt und damit die *Größe der Cubitalzelle auf beiden Seiten weitgehend übereinstimmt*, so daß die Länge der Strecken *a* und *b* völlig unabhängig von der Größe der Cubitalzelle ist. Wie Abb. 26 und die Tabelle (S. 323) zeigen, sind der ganze Flügel und auch die einzelnen von Chitinadern begrenzten Zellen demnach *links und rechts gleichartig* ausgebildet. Die Annahme von ALBER (1950), daß durch die Asymmetrie des Cubitalindex ein „schiefer Flugapparat“ bewirkt würde, kann somit nicht bestätigt werden.

Auch bei der Untersuchung der Merkmalasymmetrie wurden nur die einzelnen Komponenten der Indizes berücksichtigt, da das Berechnen einer Korrelation zwischen Verhältniszahlen wenig sinnvoll erschien. Ein Index gibt wohl, wenn der Mittelwert berechnet wurde, das durchschnittliche Verhältnis der Strecken zueinander an, er vermittelt aber auch da nur bei einer gleichzeitigen Bewertung der Einzelstrecken ein genaues Bild.

Um auch an dem vorliegenden Material die von RUTTNER (1952) festgestellte Übereinstimmung der Durchschnittswerte des linken und rechten Cubitalindex nachzuprüfen, wurden Mittelwert und das Streuungsmaß σ bei Krainern, Italienern und der Kreuzung berechnet und die erhaltenen Werte in der auf S. 283 beschriebenen Weise verglichen.

(*D* = Differenz der Mittelwerte; σD = Fehler der Differenz. Für $\frac{D}{\sigma D} = t$ wird gemäß der *Student*-Verteilung die Signifikanz *Pt* angegeben.)

Tabelle 12

	Links		Rechts		<i>D</i>	σD	<i>t</i>	<i>Pt</i>
	<i>M</i>	σ	<i>M</i>	σ				
Krainer Rasse . . .	2,518	0,262	2,470	0,300	0,048	0,0396	1,212	0,2
Italiener Rasse . . .	2,830	0,346	2,904	0,356	0,074	0,0496	1,088	0,3
Kreuzung	2,154	0,342	2,162	0,388	0,008	0,0517	0,154	0,9

Wie aus der vorstehenden Tabelle hervorgeht, kann man die Unterschiede zwischen den linken und rechten Indizes als zufällig bezeichnen, da ein Wahrscheinlichkeitsgrad von 0,2 oder sogar 0,9 bei weitem nicht ausreicht, um die Unterschiedlichkeit der beiden Werte als „echt“ anzusehen.

Auch bei den hier untersuchten Bienen sind also die Einzelwerte des Cubitalindex links und rechts sehr verschieden, wie aus den Kurven und der Berechnung des Korrelationsgrades zwischen linken und rechten Werten ersichtlich ist, die *Mittelwerte stimmen* jedoch weitgehend miteinander überein.

Von den übrigen Merkmalen weist nur die Strecke b' der Radialzelle der Italiener Bienen eine größere Links-Rechts-Verschiedenheit auf.

Das gesamte Material — die untersuchten Bienen, 75 Umordnungstabellen und die Berechnungskurven — ist im Institut für Kinematische Zellforschung der Universität Frankfurt am Main einzusehen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die beiden Rassen der Biene: *Apis mellifica carnica* und *Apis mellifica ligustica* konnten bisher nur auf Grund der verschiedenen Ausfärbung ihres Chitins unterschieden werden. Diese läßt jedoch wegen ihrer großen Variabilität nur eine vage Abgrenzung zu.

2. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, unter Hinzuziehung vieler neuer Merkmale und einer Analyse ihrer *Variabilität* und ihrer *korrelativen Beziehungen*, eine Unterscheidung der beiden Rassen möglich zu machen.

3. Die von KÜHL (1929) entwickelte *graphische Form- und Korrelationsanalyse* erwies sich wegen ihrer Anschaulichkeit und der Möglichkeit, mit ihr viele Merkmale gleichzeitig zu untersuchen, als *besonders geeignet* zur *Auswertung* der gemessenen Merkmalsgrößen.

4. Die Methode wurde derart erweitert, daß eine *Berechnung des Korrelationsgrades* möglich wurde (Graphisches Mittel „ GM “).

Es wurden 24 Merkmale an je 100 Tieren der beiden Rassen und 100 Tieren einer Kreuzung zwischen Krainer und Italiener Rasse untersucht.

5. Die für jedes Merkmal der 3 Gruppen berechneten *Mittelwerte* ergaben einen erheblichen *Größen- und Formunterschied* zwischen der *Krainer* und *Italiener Rasse*.

a) Der *Flügel* ist zwar bei beiden Rassen gleich lang, jedoch bei der Italiener Rasse wesentlich schmaler als bei den Krainer Bienen.

Dasselbe trifft für die Radialzelle zu.

Der freie, nicht von Chitinadern gestützte Teil der Radialzelle ist bei der Italiener Rasse länger. Dadurch wird der Wert des *Radialindex* höher als bei der Krainer Rasse. Die Cubitalzelle liegt bei den Italiener Bienen mehr in der Mitte des Flügels.

Der Flächeninhalt der *Cubitalzelle*, die Strecke a und damit auch der *Cubitalindex* $a:b$ der Italiener Rasse sind größer als die der Krainer Bienen. Dies trifft auch für die Zahl der *Flügelhaken* zu.

b) Der *Kopf* der Italiener Bienen ist schmaler, die Labialtaster sind kürzer.

c) Auch *Ferse* und *Abdomen*, bis auf den 2. Sternit, sind kürzer und schmaler als die der Krainer Bienen.

6. Bei der *Kreuzung* sind die Merkmale des Flügels, mit Ausnahme von *b* und der Flügelbreite, größtmäßig denen der Krainer Rasse angenähert; die Maße der *Ferse* und des *Abdomen*, bis auf die des 2. Sternit stimmen weitgehend mit denen der Italiener überein.

7. Die *Variabilität* der Merkmale ist bei der *Kreuzung* größer als bei der Krainer und Italiener Rasse. Bei allen 3 Gruppen variieren die Maße der *Cubitalzelle* und die *Anzahl der Flügelhaken* am stärksten. Am wenigsten variieren Länge und Breite des Flügels, sowie die Kopfbreite.

8. Die *Analyse der korrelativen Beziehungen* zwischen den Merkmalen ergab (es sind hier nur die wichtigsten Korrelationen angeführt):

a) Bei allen 3 Gruppen stehen *Länge* und *Breite des Flügels* in positiver Korrelation. Außerdem ist ein enger Zusammenhang zwischen *Flügel-länge*, *Länge der Radialzelle* und *a'* nachweisbar.

Der *Flächeninhalt der Radialzelle* ist von der *Breite* der Zelle abhängig.

Innerhalb des Abdomen korreliert sowohl die *Länge* des 2. und 3. *Tergit* wie auch die *Breite* des 2. und 3. *Sternit* miteinander. Der *Flächeninhalt* des 3. Wachsspiegels hängt vor allem von der *Breite* des 3. *Sternit* ab.

b) Die Italiener und Krainer Rasse weisen verschiedene Korrelationen zwischen den einzelnen Merkmalen und damit jeweils für die Rasse charakteristische Körperproportionen auf.

Bei der *Italiener Rasse* kommen nur wenige typische Korrelationen vor. Dies sind hauptsächlich die *negative* Beziehung zwischen *a'* und *b'* der *Radialzelle* und die *positive* Korrelation zwischen der *Länge* der *Radialzelle* und der *Anzahl der Flügelhaken*.

Bezeichnend für die *Krainer Rasse* ist die große Zahl der bei ihr auftretenden Korrelationen, darunter vor allem die von *Flügel-länge* zu *Kopf-breite* und zu *dorsalen* sowie auch *ventralen* Merkmalen des *Abdomen*. Die für die Krainer Rasse typischen korrelativen Beziehungen zwischen den wichtigsten, die Körpergröße der Biene bestimmenden Merkmalen bezeichnen ein auch bei unterschiedlicher Größe gleichbleibendes proportionales Größenverhältnis der einzelnen Körperteile zueinander.

Außerdem ist die positive Beziehung zwischen der *Strecke a* und dem *Flächeninhalt der Cubitalzelle* hervorzuheben.

c) Ein Überwiegen der Korrelationen einer *Ausgangsrasse* bei der *Kreuzung* ist nicht festzustellen. Es treten bei ihr zwar mehrere der für die Krainer Rasse typischen Merkmalsbeziehungen auf; da jedoch die Italiener Rasse nur sehr wenige korrelative Zusammenhänge aufweist, so zeigt gerade das Fehlen von Korrelationen bei der Kreuzung auch eine Übereinstimmung mit der Italiener Rasse auf.

Von den *nur* bei der *Kreuzung* auftretenden Korrelationen sind vor allem die negative Beziehung zwischen *a* und *b* der *Cubitalzelle* und die positiven Korrelationen von *Labialtaster* zu *Kopfbreite* und *Länge* des *3. Sternit* zu erwähnen.

9. Der bisher aus 100 Meßdaten gewonnene Korrelationsgrad (*GM*) wurde zum Vergleich auch aus 50 und 190 Maßen berechnet. Die aus 50 und 100 Maßen errechneten Werte weisen eine größere Differenz auf als die der Werte aus 100 und 190 Meßdaten. Je kleiner die Anzahl der zugrunde gelegten Meßdaten, desto höher ist der Korrelationsgrad.

10. Die „größte Abweichung von der geordneten Anstiegskurve“, die zur Berechnung des Korrelationsgrades ermittelt wurde, ist gleichzeitig ein Maß für die Variabilität. Ein Vergleich mit den Werten von σ und V ist jedoch wegen der völlig verschiedenen Berechnungsart nicht möglich.

Die Merkmale des Flügels der *Italiener Rasse* variieren wenig, die des Abdomen am stärksten.

Bei der *Krainer Rasse* sind dagegen die Maße des Abdomen am wenigsten variabel. Mehrere Merkmale des Flügels, sowie Länge und Breite der Ferse, weisen eine große Variabilität auf.

Die Merkmale der *Kreuzung* verhalten sich, bis auf die stark variierenden Fersenmaße, nicht einheitlich innerhalb der Merkmalsgruppen. Es zeigt sich keine größere Übereinstimmung mit einer der beiden Ausgangsrassen.

11. Die meisten *Merkmale* sind auf der *linken* und *rechten* Seite sehr *gleichmäßig* ausgebildet. Eine *völlige Asymmetrie* zeigen *a*, *b*, und die Anzahl der *Flügelhaken* der *Italiener Bienen*, sowie die *Flügelhakenanzahl* der *Krainer Rasse*.

Die Mittelwerte der linken und rechten Cubitalindizes weisen, übereinstimmend mit den Ergebnissen von RUTTNER, keine Differenzen auf.

Literatur

- ALBER, M.: Asymmetrie der Bienenflügel. Arch. Bienenkde 26 (1949). — Cubital-Mathematik und Asymmetrie-Studien. Arch. Bienenkde 27 (1950). — ALPATOV, W. W.: Über die Verkleinerung der Rüssellänge der Honigbiene vom Süden nach dem Norden hin. Zool. Anz. 65 (1925). — Biometrical studies on variation and races of the honey bee. Quart. Rev. Biol. 4 (1929). — Biometry of bees tongues. Amer. Bee J. 69 (1929). — ARMBRUSTER, L.: Wie untersucht man Bienenstämme und Bienenkreuzungen auf ihre Farbe? Arch. Bienenkde 5/6 (1923). — Nutzzüchtungsfragen um die brste Biene. Arch. Bienenkde 25 (1948). — ASHMEAD, W. H.: Remarks on honey bees. Proc. Entomol. Soc. Washington 6 (1904). — BACHMETJEV, P.: Analytisch-statistische Untersuchungen über die Anzahl der Flügelhaken bei Bienen. Z. wiss. Zool. 94 (1909). — Die statistisch analytische Methode im Dienste der Bienenkunde. Dtsch. entomol. Z. 1910. — DOBZHANSKY, TH.: Die genetischen Grundlagen der Artbild. Jena: Gustav Fischer 1939. — DREHER, K.: Beiträge zur Merkmalsuntersuchung der Honigbiene. Z. Bienenforsch. 1(1950). — FARCAS, A.: Variationsstatistische Untersuchungen des

Bienenrüssels. Arch. Bienenkde 20 (1939). — GEBELEIN, H., u. H. J. HEITE: Statistische Urteilsbildung. Berlin: Springer 1951. — GOETZE, G.: Zur Züchtungsbiologie. Variabilitätsstudien an der Honigbiene. Preuß. Bienenztg 9 (1926). — Variabilitäts- und Züchtungsstudien an der Honigbiene mit besonderer Berücksichtigung der Langrüsseligkeit. Arch. Bienenkde 11 (1930). — Die geographischen Bienenrassen und ihre gegenseitigen Beziehungen. Dtsch. Imkerführer 9 (1935). — Die beste Biene. Leipzig: Liedloff, Loth & Michaelis 1940. — Erbliche und nichterbliche Merkmale im Flügelgeäder der Honigbiene. Dtsch. Imkerführer 10 (1935). — JOHANNSEN, W.: Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Jena: Gustav Fischer 1926. — KELLOGG, V. L., and R. G. BELL: Studies of variation in insects. Proc. Washington Acad. Sci. 6 (1904). — KOLLER, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1943. — KRCZAL, H.: Untersuchungen zur Variabilität von Flügelindex und Rüssellänge bei der Honigbiene. Z. Bienenforsch. 1 (1952). — KÜHL, W.: Die Variabilität der abdominalen Körperanhänge von *Forficula auricularia* L. unter Berücksichtigung ihrer normalen und abnormalen Entwicklung, nebst einem Anhang über die Geschlechtsbiologie. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 12 (1928). — LANDACRE, F. L.: A study in variation on the wing of the honey bee. Ohio naturalist. 1 (1901). — LINDER, A.: Über das Auswerten zahlenmäßiger Angaben in der Bienenkunde. Beih. schweiz. Bienenztg 2 (1947). — LUTZ, F. E.: Variation in bees. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole 6 (1904). — MICHAILOW, A. S.: Über eine lineare Korrelation zwischen der Rüssellänge der Honigbiene und der geographischen Breite im ebenen europäischen Rußland. Arch. Bienenkde 7 (1926). — Der Einfluß einiger Lebenslagefaktoren auf die Variabilität der Honigbiene. Arch. Bienenkde 8 (1927). — Über die Saisonvariabilität der Honigbiene. Arch. Bienenkde 8 (1927). — Weitere Untersuchungen über die phänotypische Variabilität der Honigbiene in Verbindung mit der Frage der Bienenrassen. Arch. Bienenkde 11 (1931). — MÜLLER, K.: Das Labialtasterglied des Bienenrüssels als Maß für die wirkliche Rüssellänge. Dtsch. Imkerführer 12 (1938). — PHILLIPS, E. F., and D. B. CASTEEL: Comparative variability of Drones and Workers of the honey bee. Biol. Bull. 6 (1904). — Variation and correlation in the appendages of the honey bee. Cornell University Agricultural experiment station. Ithaca, N. Y. 1927. — RUTTNER, F.: Beitrag zu einigen strittigen Fragen der Bienenzüchtung. Österr. Imker 6 (1952). — Die Außenmerkmale des Carnica-Stammes Troiseck. Österr. Imker 4 (1952). — RUTTNER, F., and O. MACKENSEN: The genetics of the honey bee. Bee World 33. (4) und (5). — SKORIKOW, A. S.: Neues in der Frage der Bienenrassen. Arch. Bienenkde 11 (1930). — WEBER, E.: Einführung in die Variations- und Erblchkeitsstatistik. München: J. F. Lehmann 1935. — ZANDER, E.: Beiträge zur Rassenunterscheidung bei der Honigbiene. Arch. Bienenkde 3 (1921). — Beiträge zur Variabilität und Vererbung bei der Honigbiene. Erlanger Jb. Bienenkde 1 (1923). — Der Bau der Biene. Stuttgart: E. Ullmer 1946.

Dr. GERDA KUNZE, Eiserfeld/Sieg i. W., Bogenstr. 14

Aus dem Zoologischen Institut der Technischen Hochschule Stuttgart
(Direktor: Prof. Dr. O. PFLUGFELDER)

ENTFERNUNG DER INTRAZELLULÄREN SYMBIONTEN DER
KÜCHENSCHABE (*PERIPLANETA ORIENTALIS* L.) DURCH
EINWIRKUNG VERSCHIEDENER ANTIBIOTICA, UNTER BE-
SONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER VERÄNDERUNGEN
AM WIRTSTIER UND AN DEN BAKTERIEN*

Von

WERNER FRANK

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Juni 1955)

Inhalt

	Seite
A. Einleitung	329
B. Material und Methode	330
C. Eigene Untersuchungen	332
I. Reaktion der Symbionten.	333
II. Reaktion der Tiere.	338
III. Vitaminversuche.	345
IV. Physiologische Versuche	347
1. Beeinflussung von Farbe und Sklerotisierung	347
2. Beeinflussung der Ovarienausbildung.	349
3. Papierchromatographische Untersuchungen	350
V. Untersuchung der Kernverhältnisse der Bakterien	350
D. Diskussion	352
Zusammenfassung	363
Literatur	364

A. Einleitung

Das Phänomen der Symbiose zwischen niederen pflanzlichen Organismen und höher differenzierten tierischen Lebewesen hat in den vergangenen Jahrzehnten viele Probleme aufgeworfen. Waren es um die Jahrhundertwende die sich widersprechenden Ansichten, ob die Symbionten wirkliche selbständige Individuen darstellen oder ob es sich dabei nur um Stoffwechselprodukte des Tieres handle, so stellten später die Vermutungen über Nutzen oder „harmlosen Parasitismus“ dieser pflanzlichen Gäste lange Zeit eine weitere Streitfrage dar. Da eine operative Entfernung dieser „Mitbewohner“ in nur wenigen günstigen Ausnahmefällen möglich ist, konnte eine Klärung der vielen physiologischen Fragen nicht herbeigeführt werden. Es wurde deshalb mit

* Die Arbeit wurde zur Erlangung der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften der Technischen Hochschule Stuttgart vorgelegt.

Hilfe verschiedener Antibiotica versucht, die symbiontischen Bakterien der Küchenschaben zu entfernen und zu untersuchen, welche Veränderungen dabei am Tier selbst, aber auch an den Bakterien hervorgerufen werden.

B. Material und Methode

I. Verwendete Antibiotica¹

Penicillin:	Penicillin G — „Hoechst“ krist. Natrium-Salz
	Novocain — Penicillin aquosum (N-Pc-„aqu“)
	Depot-Penic. „Hoechst“ für die wäßrige Suspension
	Novocain — Penicillin oleosum (N-Pc-„ol“)
	Depot-Penic. „Hoechst“ in ölgiger Suspension
	(Alle Präparate: „Ad usum veterinarum“)
Aureomycin:	Aureomycin-HCl kristallin
Terramycin:	Terramycin-HCl kristallin
Streptomycin:	Streptomycinsulfat
Chloromycetin:	Chloramphenicol kristallin
Aerosporin:	Polymyxin B (Sulfat)

II. Anwendung der Antibiotica

Die Verabreichung der Antibiotica erfolgte bei einem kleinen Teil der Versuchstiere durch Injektion in den abdominalen Fettkörper, bei der Mehrzahl der Tiere jedoch oral, durch Beimengung zum Futter. Die Injektionen wurden in täglichem bzw. zweitäglichem Rhythmus durchgeführt. Dabei wurde für die größten Tiere eine in $\frac{1}{100}$ geteilte „Tuberkulinspritze“ mit Feststellschraube verwendet. Es war damit möglich, beliebige Mengen, aber in nur vollen $\frac{1}{200}$ cm³ genau zu dosieren. Für die anderen Tiere diente die Mikroinjektionsspritze der Mechanischen Werkstätten Göttingen (BERGOLD 1941). Larven mittlerer Größe wurden mit Injektionsnadeln (Acufirm Nr. 22), kleine mit Glaskanülen injiziert. Diese Arbeit war, besonders bei den jungen Tieren, sehr zeitraubend. Es wäre auf diese Weise nicht möglich gewesen, größere Versuchsreihen anzusetzen, da die Injektionen über einen längeren Zeitraum hinweg durchgeführt werden mußten.

Bei der oralen Verabreichung war es durch günstige Auswahl des Futters (s. unter III) möglich, die Antibiotica im Vorrat der Futtersubstanz beizumengen. Davon konnte dann täglich die gewünschte Menge entnommen werden. Dabei war von vornherein klar, daß wenigstens bei einigen Antibiotica, durch die Fermente der Tiere ein Teil der wirksamen Substanz zerstört werden würde. Aber durch die kontinuierliche Anwendung über längere Zeit hinweg, mußte es doch möglich sein, eine genügend große Menge auf die Bakterien zur Einwirkung zu bringen.

III. Tiere und Tierhaltung

Für die Versuche wurde die Küchenschabe (*Periplaneta orientalis*), für einige Vergleichsuntersuchungen die Stabheuschrecke (*Carausius morosus*) verwendet.

¹ Für die großzügige Überlassung der wertvollen Präparate bin ich den Firmen Farbwerke Hoechst AG. (Frankfurt a. M.-Höchst), Lederle Laboratories (New York), C. H. Boehringer-Sohn, Ingelheim a. Rh., als Vertriebsfirma der Chas. Pfizer u. Co. (New York), Bayer (Leverkusen), Parke, Davis u. Co. (Detroit 32 Michigan) und Burroughs Wellcome u. Co. (Tuckahoe N. Y.) zu ganz besonderem Dank verpflichtet.

Die Küchenschaben entstammten einem Frischfang aus einer Dunglege im Gebiet der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim, die Stabheuschrecken einer Zucht des Zoologischen Institutes Stuttgart.

Die Haltung der Küchenschaben erfolgte in Glasdosen von etwa 106 cm² Grundfläche und einer Höhe von 6 cm. Sie wurden mit mehreren Lagen Zeitungspapier ausgelegt. Als Unterschlupf für die Tiere dienten Papierrollen aus etwa 6 × 20 cm großen Zeitungspapierstreifen. Anfangs befanden sich bis zu 100 Jungtiere in den Schalen, später nur noch 20–30 Stück. Das Papier wurde täglich mit einem Sprayer befeuchtet. Die Unterbringung der Glasdosen erfolgte in einem Thermostaten¹ bei einer konstanten Temperatur von 26° C. — Für alle Versuchsreihen wurden, falls keine anderen Angaben gemacht werden, Tiere verwendet, die höchstens 14 Tage vor Versuchsbeginn aus den Kokons geschlüpft waren. Als Futter kam nach anfänglichen Versuchen mit gekochten Kartoffeln, Brot, Obst usw. später ausschließlich „Muskator-Kükenaufzuchtmehl“ zur Anwendung. Es wurde von den Tieren gerne gefressen und eignete sich auch sehr gut zur Beimengung der Antibiotica. Vor Gebrauch kam jeweils soviel Wasser hinzu, bis die Masse einen dicken Brei darstellte. Dadurch war eine stets gleichbleibende Zusammensetzung des Futters gewährleistet, und die Antibiotica konnten für längere Zeit im voraus zugesetzt werden, was eine wesentliche Zeitersparnis bedeutete. Durch vorheriges Sieben des Kükenmehls wurden die groben Bestandteile wie Spelzen, Kohle und ähnliche Partikel entfernt. Die Zusammensetzung dieses Futtergemisches geht aus Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1. *Kükenaufzuchtmehl*

22% Eiweißkonzentrat (Mischfutter) bestehend aus:

27% Fischmehl
18% Dorschmehl
18% Fish-Solubles (eingedickter Fischpreßsaft)
14% Trockenfutterhefe
14% Sojaschrot, extra gemahlen
9% Magermilchpulver

100%

15% Dari, geschr.	Vitamingehalte je 1 kg Fertigfutter:
12% Maiskleberfutter	3000 iE Vitamin A
12% Weizenfuttermehl	400 iE Vitamin D ₃
10% Futterweizen, geschr.	2 mg Vitamin B ₁
5% Hafer, gesch., entb., geschr.	2 mg Vitamin B ₂
5% Mais geschr.	10 mcg Vitamin B ₁₂
5% Gerste geschr.	Antibioticazusatz
5% Tapiokamehl (2% vitaminisiert)	5 mg Procain-Penicillin
5% Luzernegrünmehl	Die zugesetzten Vitamine sind mineral-
2% Weizenkeime	stabil und die Haltbarkeit in der Ge-
2% ungew. Futterkalkmischung mit	samtzmischung wird für 4 Monate garan-
Spurenelementen im Verhältnis	tiert.
Eisen 5: Kupfer 1: Mangan 1:	
Kobalt 1	

100%

Dieses Futter enthält 0,025% Sulfaquinoxalin zur Vorbeugung gegen Geflügel-Kokzidiose.

¹ Für die Bereitstellung des Thermostaten danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Die vielen hochwertigen Stoffe gewährleisteten gleichzeitig eine optimale Versorgung mit Vitaminen und lebensnotwendigen Aminosäuren. — In geringer Menge waren diesem Aufzuchtmehl bereits Antibiotica zugesetzt (1953 Aureomycin, 1954 Procain-Penicillin). Es handelte sich dabei um 5 bzw. 8 mg je Kilogramm Futter, eine Menge, die sich als völlig einflußlos auf die Symbionten erwiesen hatte. Deshalb wurde auf eine Sonderzusammenstellung ohne Antibiotica durch die Firma „Bergisches Kraftfutterwerk“ Düsseldorf-Hafen verzichtet.

Bei Verfütterung dieses Gemisches gelang es, *Periplaneta orientalis* innerhalb 6½—7½ Monaten, gerechnet vom Tag des Schlüpfens aus dem Kokon, bis zur Imago zu bringen. Die Fütterung erfolgte täglich im Überschuß.

IV. Vitaminversuche

Nach restloser Entfernung der Symbionten aus den Bakteriocyten wurde versucht, eventuell auftretende Mangelerscheinungen durch Zufütterung von Vitaminen auszugleichen. Für die Versuche kamen Vitaminreinsubstanzen¹ und Kombinationspräparate² zur Verwendung; in 2 Versuchsreihen außerdem die Nektarhefe (*Candida reukaufii*)³ und Bäckerhefe.

V. Untersuchungstechnik

Die Beeinflussung der Symbionten durch die Antibiotica wurde an Hand von Schnitt- und Ausstrichpräparaten kontrolliert. Für die Fixierung des histologischen Materials diente vorwiegend „Susa“. Die Einbettung erfolgte über Methylbenzoat-Benzol in Paraffin (ROMEIS 1948). Die Färbung wurde teilweise mit einer Kernechtrotkombination, aber auch mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN ausgeführt. Dabei kamen geringe Bakterienmengen besser zur Darstellung. — Die Ausstriche wurden nach GRAM (s. HABS 1951) gefärbt. Für die Darstellung der Nukleide in den Bakterien diente Giemsa-Färbung. Kontrollen dazu wurden nach der FEULGENschen Nuklealreaktion behandelt. In einigen Fällen gelangte an Stelle der HCl-Hydrolyse Ribonuklease zur Anwendung.

C. Eigene Untersuchungen

Jede Versuchsreihe, mit Ausnahme der mit Aerosporin, wurde mit etwa 200 Tieren angesetzt, so daß insgesamt rund 1000 Schaben geprüft werden konnten.

Die verwendeten Antibioticamengen wurden nach Vorversuchen, die einen gewissen Schluß auf die wirksamen Konzentrationen zuließen, zusammengestellt. Mit Ausnahme von Aerosporin war bei allen übrigen Antibiotica die Möglichkeit einer Entfernung der symbiontischen Bakterien auf Grund der klinischen Erfahrungen möglich. Wenn die Diskussion über die systematische Stellung der Symbionten hier auch nicht aufgerollt werden soll, so ergab schon die Gramfärbung einen Anhaltspunkt für die Auswahl der Substanzen.

¹ Für die Überlassung dieser Präparate danke ich der Firma Deutsche Hoffmann-La Roche AG., Grenzach (Baden), und der Firma Kali Chemie, Düsseldorf.

² Für die Zurverfügungstellung der Präparate „Multibionta“ und „Polybion“ bin ich der Firma Merck, Darmstadt, zu Dank verpflichtet.

³ Herrn Dozent Dr. E. BURCIK von der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim danke ich für die Bereitstellung der *Candida reukaufii*-Aufschwemmung.

Penicillin ist bekannt als hochwirksames Antibioticum gegen die meisten grampositiven Kokken und Bakterien. Aureomycin (Chlortetracyclin) und Terramycin (Oxytetracyclin) sind die bisher verbreitetsten Vertreter der Tetracyclingruppe. Ihre weitgehende chemische Ähnlichkeit erklärt ihre nahezu gleichartige antibiotische Wirksamkeit. Zusammen mit Chloromycetin (Chloramphenicol) gehören Aureomycin und Terramycin zu den „Breitspektrumsantibiotica“, ihre Anwendung war also gerechtfertigt. Bei Streptomycin ist die Wirksamkeit gegen grampositive Erreger geringer als gegen gramnegative. Eine Anwendung gegen die Symbionten wurde aber versucht. Aerosporin hat einen sehr scharf begrenzten Anwendungsbereich im Gebiet der gramnegativen Keime. Trotzdem wurde geprüft, ob eventuell eine Beeinflussung der grampositiven Symbionten möglich gemacht werden konnte.

Der Antibioticazusatz wurde sehr hoch gewählt, um einer Resistenzentwicklung vorzubeugen. Außerdem rechtfertigt die vermutlich feste „Bindung“ zwischen symbiontischen Bakterien und Wirt diese Art „Schocktherapie“. Nur bei Aerosporin mußte aus Gründen der Sparsamkeit — es standen nur sehr geringe Mengen zur Verfügung — aber auch auf Grund seiner sonstigen hohen Wirksamkeit nur mit geringen Konzentrationen gearbeitet werden. Die noch gut verträglichen Mengen sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2

	Injektion je Tag	Versuchs- dauer	Ver- fütterung	Versuchs- dauer
Penicillin G-Natrium . . .	2000 IE	12 Tage	75 iE/mg	5 Monate
Penicillin aquosum . . .	2000 IE	10 Tage	50 iE/mg	12 Monate
Penicillin oleosum	1500 IE	5 Tage	—	—
Aureomycin	100 γ	6 Tage	3%	5 Monate
Terramycin*	—	—	3%	5 Monate
Chloromycetin	—	—	5%	12 Monate
Streptomycin	—	—	3%	12 Monate
Aerosporin	—	—	0,5%	6 Monate

* Die Einwaage erfolgte von den handelsüblichen Kapseln, denen Stärke beige mengt ist. Sie wurde aber auf reines Terramycin-HCl umgerechnet.

I. Reaktion der Symbionten

Veränderungen an den symbiontischen Bakterien waren schon nach wenigen Tagen festzustellen. Sie sind zunächst bei allen Antibiotica, mit Ausnahme von Aerosporin, ähnlich. Die im Normalfall grampositiven Bakterien werden schon nach kurzer Zeit gramnegativ. Später treten aber doch wesentliche Unterschiede auf (s. Tabelle 3).

a) Penicillin¹. Bei Penicillin, besonders als Novocain-Penicillin (für die wäßrige Suspension), zeigte sich am raschesten eine Abnahme der

¹ Die verschiedenen Reaktionen der Symbionten auf die Verabreichung der Antibiotica werden getrennt aufgeführt.

Symbionten innerhalb der Bakteriocyten. — Novocain-Penicillin oleosum war ebenfalls hochwirksam, doch wurde von einer weiteren Verwendung abgesehen, da sich eine Beimengung zum Futter als ungünstig erwiesen hatte.

Innerhalb kurzer Zeit waren die symbiontischen Bakterien gram-negativ geworden. Daran anschließend zeigte sich eine Verlängerung des Zelleibes. In diesem Zustand fanden sich die Bakterien bei Verfütterung des Penicillins in einzelnen Fällen noch bis zu 2 Monaten in den Ausstrichpräparaten. Histologische Schnittpräparate boten auf diesem Stadium schon tiefgreifende Veränderungen. Die Symbionten waren bereits beträchtlich verringert. Es war nicht schwierig, zwischen

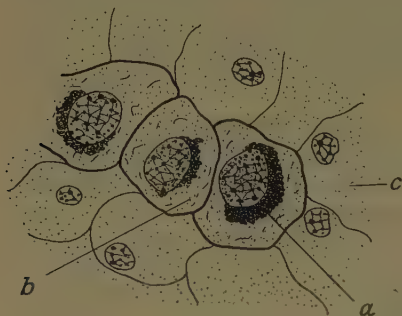


Abb. 1. *a* Restliche Bakterien. *b* Bakteriocyten. *c* Fettzellen. Vergr. 250mal

den kleineren Kernen des Fettgewebes die großen ovalen Kerne der Bakteriocyten herauszufinden. Dabei konnte in allen Fällen eine eigenartige Erscheinung beobachtet werden, die auch bei den anderen Antibiotica stets wieder zu finden war. Der Restbestand an Symbionten war stets direkt um den Zellkern angeordnet. Vergleicht man die Abb. 1, die einen Schnitt durch ein derartiges Tier darstellt, mit den

Verhältnissen bei einem Normaltier (Abb. 4a), so ist der Unterschied leicht zu erkennen. Eine Unterscheidung einzelner Bakterien war auf diesem Stadium in Schnittpräparaten noch weniger möglich, als das im normalen Zustand ohnehin schon der Fall ist.

Daß es sich bei dieser Ansammlung der „Rest-Bakterien“ um eine Fixierungserscheinung handelt, ist unwahrscheinlich.

Während in Schnitten eine fortschreitende Verringerung der Bakterien festgestellt werden konnte, zeigten Ausstrichpräparate, die nach GRAM gefärbt waren, zwischen den langen Stäbchen Formen, die das Aussehen großer Kokken hatten. Stadien, die an Diplokokken erinnerten, dürften wohl derartige in Teilung begriffene „Kokken“ sein. Vereinzelt waren noch ganz dünne Langstäbchen zu sehen. Eine Verunreinigung der Präparate war ausgeschlossen, es sei denn, es hätte sich dabei um „Mitbewohner“ der Tracheen gehandelt, die in ihren feinsten Ästchen stets in den Ausstrichen zu finden waren. Eigentümlich war die gram-positive Reaktion bei einem Teil der „Kokken“. In Präparaten von Kontrolltieren fanden sich nie derartige Formen.

Bis zur völligen Symbiontenfreiheit der Versuchstiere vergingen $3\frac{1}{2}$ —4 Monate.

Zu der alten Streitfrage, ob innerhalb der Bakteriocyten auch Hefen vorkommen können, wie dies GROPENGIESSER (1925) festgestellt haben wollte, läßt sich aus den hier durchgeführten Versuchen folgendes beitragen. Bei den untersuchten Tieren (mehrere Hundert) fanden sich in den Ausstrichen zweimal Hefen. Ob sich diese Hefen in den Bakteriocyten befunden hatten, kann aus diesen Präparaten nicht geschlossen werden. Im ersten Fall war die Gestalt oidienartig, im anderen dagegen erinnerte sie mehr an Saccharomyceten.

b) Aureomycin. Die Reaktion der symbiontischen Bakterien auf dieses Antibioticum war der auf Penicillin hin sehr ähnlich. Unterschiede traten aber insofern auf, als die Bakterien keine so typischen Gestaltsveränderungen zeigten. Die Wirkung von Aureomycin war etwas ungünstiger als die von Penicillin. Bis alle Symbionten restlos vernichtet waren vergingen 4 — $4\frac{1}{2}$ Monate.

c) Terramycin. Die Veränderungen unter Terramycineinwirkung waren mit denen von Aureomycin zu vergleichen. Das Mittel mußte bis zu 5 Monaten an die Tiere verabreicht werden, um die Symbionten zu entfernen. Trotzdem waren nach 12 Monaten bei etwa 4% der Versuchstiere in einzelnen Bakteriocyten wieder Bakterien festzustellen. Diese Tiere wurden aussortiert. Auf Grund ihrer Farbe war das leicht möglich.

d) Chloromycetin. Bei den Vorversuchen wurde Chloromycetin nur zu 1% dem Futter zugesetzt. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Symbionten zunächst gramnegativ reagierten und nach einiger Zeit stark verlängert waren. In diesem Zustand traten sehr häufig Bakterien auf, die an einzelnen Stellen aufgebläht waren. In der Mehrzahl handelte es sich um „Endkeulen“, aber auch „Kniebildungen“ kamen vor. In der Abb. 2 sind einige charakteristische Formen zusammengestellt.

Da dieser Zustand bis zu 3 Monaten anhielt, das Bestreben aber zunächst dahin ging, die Symbionten zu vernichten, wurde für die Hauptversuche die Chloromycetinkonzentration auf 5% erhöht. Auch hier war zu beobachten, daß die Bakterien große Tendenz zur Verlängerung zeigten. Drei- bis fünffache Länge gegenüber normalen Symbionten war die Regel. Diese Bakterien waren ebenfalls gebogen und teilweise gewunden. Der Unterschied zwischen diesen abgeänderten



Abb. 2. a Endkeule. b Kniebildung. c Vakuolen. d Stark gekrümmte Form. Vergr. 1250mal

Bakterien (Abb. 3b)¹ und unbeeinflussten Symbionten (Abb. 3a) ist deutlich zu erkennen. — Vermutlich handelt es sich, wenigstens bei einem Teil dieser stark veränderten Bakterien, um Involutionsformen.

Während bei der Mehrzahl der Versuchstiere diese Bakterien gramnegativ waren, fanden sich nach einiger Zeit eigentümlicherweise auch Tiere, die zwar Symbionten gleicher Gestalt besaßen, aber auf die Gramfärbung positiv reagierten. Diese Erscheinung, die sich schon äußerlich an den Tieren bemerkbar machte, kann nur mit einer Resistenzentwicklung der Bakterien gegen Chloromycetin erklärt werden. Der deutliche

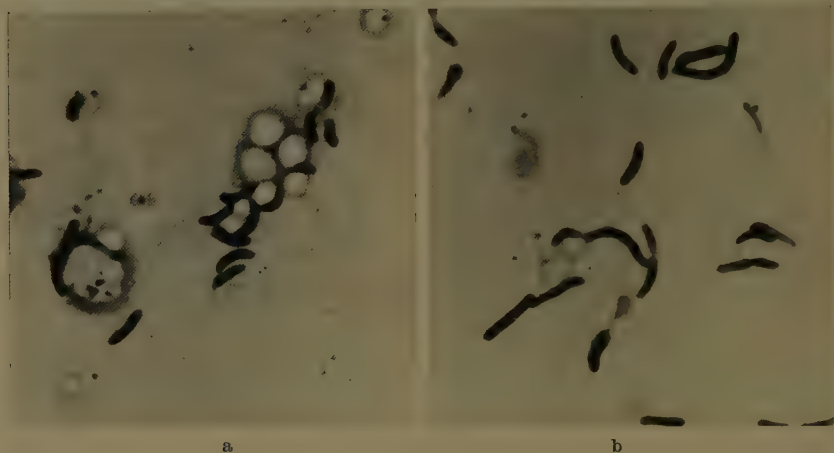


Abb. 3a u. b. a Normale Bakterien, grampositiv. Größe (Mittelwert): $3,4 \times 1,0 \mu$. Kleinste Formen: $2,0 \mu$; größte: $7,5 \mu$. b Durch Chloromycetin resistent gewordene Bakterien, grampositiv. Größe (Mittelwert): $7,8 \times 1,0 \mu$. Kleinste Formen: $3,5 \mu$; größte: $15,0 \mu$. Vergr. 1500mal

Gestaltswechsel dieser Bakterien verschwand erst Monate später, obwohl diese Schaben Futter *ohne* Chloromycetinzusatz bekommen hatten. Die Reaktion der Tiere, die sich während dieser Zeit zeigte, wird später zu erörtern sein.

c) Streptomycin. Die Wirkungsweise des Streptomycins auf die Symbionten der Küchenschabe war mit der von Chloromycetin zu vergleichen. Es traten allerdings hier keine so auffallenden morphologischen Veränderungen an den Bakterien ein. Ihre Größe war normal, aber auch kleinere Formen waren nicht selten. Eine Ähnlichkeit zwischen den beiden Antibiotica zeigte sich aber darin, daß die Bakterien auch gegen Streptomycin resistent wurden. Diese Erscheinung trat wiederum nur bei einem Teil der Tiere auf. Derartige resistente Bakterien waren,

¹ Herrn Dozent Dr. E. BURČIK vom Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim bin ich für die Anfertigung der Mikrophotographien zu großem Dank verpflichtet.

Tabelle 3

Antibiotica	Gramnegativ nach		Symblonten	Veränderungen an den Tieren			
	oral	Injektion		Tieren			
				nach 1. Häutung	nach 2 Monaten	nach 4 Monaten	nach 6 Monaten
Penicillin G-Natrium	75 iE/mg 6—8 Tage	1000 iE 2 Tage	verlängert kokkoid → 0	hellere Farbe Bakteriocyten ++++	hellere Farbe „Bakterienschutt“ ++ → +	hellere Farbe Bakteriocyten → 0	für Vitaminversuche verwendet
Penicillin N-Pc., „aqu“	50 iE/mg 3—6 Tage	1000 iE 1 Tag	verlängert kokkoid → 0	hellere Farbe Bakteriocyten ++++	hellere Farbe „Bakterienschutt“ ++ → +	hellere Farbe Bakteriocyten → 0	für Vitaminversuche verwendet
Penicillin N-Pc., „ol“	—	1000 iE 1 Tag	Affinität zur Farbe gering	—	—	—	—
Aureomycin	3% etwa 8 Tage	400γ 1—2 Tage	wenig charakteristisch	hellere Farbe Bakteriocyten ++++	hellere Farbe „Bakterienschutt“ ++	hellere Farbe Bakteriocyten → 0	für Vitaminversuche verwendet
Terramycin	3% 8 Tage 1% 40 Tage	—	wenig charakteristisch	hellere Farbe Bakteriocyten ++++	hellere Farbe Bakteriocyten +++	hellere Farbe Bakteriocyten ++ → ++	hellere Farbe Bakteriocyten 0 vereinzelt (+)
Chloromycetin	5% 10 Tage 1% 40 Tage	—	stark verlängert „Blähungen“	unwesentlich	hell und klein Bakteriocyten +++	$\frac{2}{3}$ hell und klein Bakteriocyten ++	$\frac{2}{3}$ hell und klein Bakteriocyten + → 0
Streptomycin	3% 12 Tage	—	teils verlängert teils verkürzt	unwesentlich	hell und klein Bakteriocyten +++	$\frac{2}{3}$ hell und klein Bakteriocyten ++	$\frac{2}{3}$ hell und klein Bakteriocyten + → 0
Aerosporin	0,5% bis 10 Monate positiv	—	normal grampositiv	normale Farbe Bakteriocyten +++	normale Farbe Bakteriocyten +++	normale Farbe Bakteriocyten ++	normale Farbe Bakteriocyten +++

Erklärung: Bakteriocyten + + + + = normal gefüllt; 0 = völlig geleert. (Die anderen Zeichen deuten fließende Übergänge an.)

da keine Größenveränderungen auftraten, in Ausstrichpräparaten von normalen Symbionten nicht zu unterscheiden. Mit dem abermaligen Wechsel der Gramfärbbarkeit kehrte auch hier die dunklere, für normale Tiere charakteristische Farbe wieder.

f) **Aerosporin.** Anscheinend vermag das nur bei verschiedenen gram-negativen Erregern hochwirksame Aerosporin gegen die grampositiven Symbionten der *Periplaneta orientalis* ebenfalls keine Wirkung zu entfalten. Es konnten in der Beobachtungszeit, die sich in einem Fall über 6 Monate erstreckte, keinerlei Veränderungen weder in bezug auf die Gestalt noch auf die Färbbarkeit, festgestellt werden. Als Einschränkung sei hier angeführt, daß in dieser Versuchsreihe nur 5 Tiere behandelt werden konnten. Infolgedessen bestünde die Möglichkeit, daß hier rein zufällig solche Tiere verwendet worden wären, deren Symbionten rasch Resistenz erlangten. Diese Annahme ist jedoch sehr unwahrscheinlich, weil am Anfang des Versuchs auch keine Änderung der Gramfärbbarkeit, wie bei den anderen Antibiotica, eintrat. Es muß deshalb angenommen werden, daß die symbiontischen Bakterien der Küchenschabe schon von Natur aus resistent gegen Aerosporin sind.

II. Reaktion der Tiere

Bei der Verfütterung der verschiedenen Antibiotica konnte ausnahmslos in den ersten Tagen ein gewisser Widerwillen gegen die Aufnahme des damit versetzten Futters festgestellt werden. Nach 3—4 Tagen war kein merklicher Unterschied in der verbrauchten Futtermenge mehr vorhanden. Dieser Zustand blieb allerdings nur vorübergehend bestehen. Da sehr bald ein Größenunterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren zu beobachten war, sank natürlich der Futterverbrauch bei den Versuchstieren sehr rasch wieder ab.

Bei bestimmten Antibiotica traten jeweils ähnliche Veränderungen auf; aus diesem Grund werden die gleich wirkenden antibiotischen Substanzen zusammengefaßt und gemeinsam abgehandelt.

a) **Penicillin-Aureomycin-Terramycin.** Diese 3 Antibiotica ergaben Veränderungen, die an den Versuchstieren mit nur zeitlicher Verschiedenheit auftraten. Wie schon angeführt, hat Penicillin die stärkste Wirkung auf die Symbionten. Bereits nach $3\frac{1}{2}$ —4 Monaten sind sie aus den Bakteriocyten verschwunden, während Terramycin 5 Monate benötigt. Aureomycin steht zwischen beiden. Entsprechend hierzu treten auch Veränderungen an den Tieren in dieser Reihenfolge auf.

Als Übersichtsbilder mögen die folgenden Abbildungen dienen. Sie zeigen je eine Mikrophotographie durch ein normales, symbiontenführendes (a) und ein symbiontenfreies (b) Tier.

20—30 Tage nach Versuchsbeginn trat die erste Häutung auf. Bei den Kontrolltieren fiel sie in denselben Zeitraum, so daß auch dadurch

bewiesen ist, daß bei gleicher Größe der Tiere die Futteraufnahme etwa dieselbe ist. Der Vergleich einer größeren Anzahl von Versuchstieren mit Kontrollen zeigt, daß die Versuchstiere heller gefärbt waren. Bei einem Vergleich zwischen einzelnen Tieren könnte man zunächst noch glauben, daß es sich dabei um individuelle Unterschiede handelte.

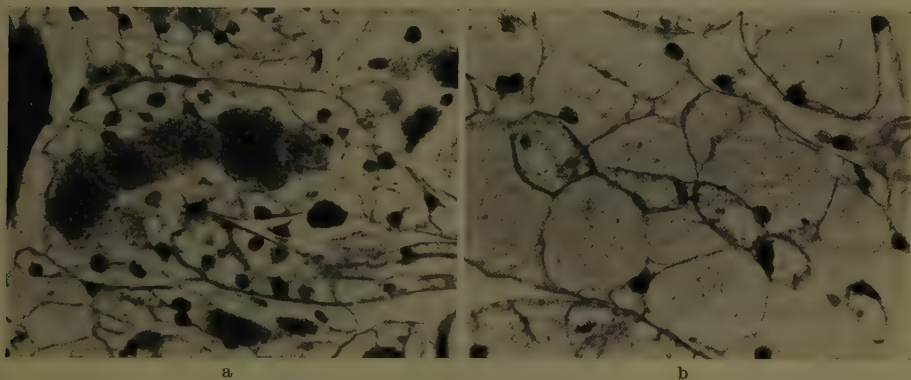


Abb. 4a u. b. a Fettläppchen mit Bakteriocyten, Kontrolltier. b Die Bakteriocyten enthalten keine Symbionten mehr. Vergr. 240mal

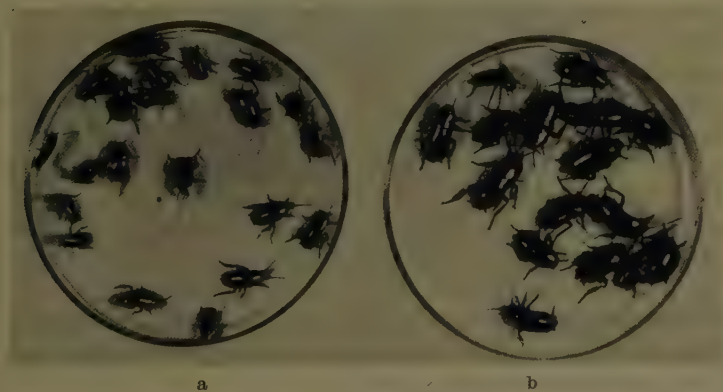


Abb. 5a u. b. Alle Tiere entstammen einer Versuchsreihe. a Die kleinen (in Natur heller gefärbten) Tiere sind symbiontenfrei. b Die großen und dunklen Schaben besitzen resistente Bakterienpopulationen (Schwarz-weiß-Wiedergabe einer Farbphotographie)

Die Versuchstiere zeigten in ihrem sonstigen Verhalten keinerlei Veränderungen. Sie waren genau so flink und freßgierig. Nach und nach ließ sich aber an den mit Antibiotica behandelten Tieren eine deutliche Hemmung des Wachstums beobachten, wie aus der Abb. 5 zu ersehen ist. Leider ist der vorhandene Farbunterschied zwischen diesen beiden Tiergruppen bei der Schwarz-weiß-Wiedergabe nicht zu erkennen. Die nächste Häutung wurde stark hinausgezögert. Die Farbe

nach dieser 2. Häutung war nun noch etwas heller; es war dies die für alle weiteren Stadien charakteristische Färbung, die lediglich bei der Häutung zur Praeimago und Imago etwas ins rotbraun abgewandelt wurde.

In dieser Zeit durchgeführte Kontrollen über den Symbiontenbestand hatten ergeben, daß gleichzeitig mit dieser Farbänderung der Tiere die Symbionten immer weniger geworden waren. Der nur noch vorhandene „Bakterienschutt“ zeigte aber, wie schon vorne ausgeführt, kaum noch Bakterien, die auch nur morphologisch mit den wirklichen Symbionten vergleichbar waren. Somit war also die Farbe der Tiere als Kriterium für das Vorhandensein der symbiontischen Bakterien heranzuziehen. Infolgedessen war auch relativ leicht zu erkennen, daß in den Versuchserien nur wirklich symbiontenfreie Tiere waren. In ganz vereinzelt Fällen kam es vor, daß Tiere z. B. bei den Vitaminversuchen, bei denen kein Antibioticum mehr zugesetzt wurde, wieder eine dunklere Farbe bekommen hatten. Die Schnittpräparate zeigten in all diesen Fällen, daß hier zumindest ein Teil der Bakteriocyten wieder mit Symbionten gefüllt war.

Während der folgenden Häutungen zeigten die Versuchstiere weiteres starkes Zurückbleiben im Wachstum. Außerdem waren die Häutungen der Versuchstiere auch nicht mehr annähernd synchron, was bei den Kontrollen doch in weitaus größerem Maße der Fall war. Einzelne Tiere blieben zwei und mehr Monate auf demselben Stadium stehen, andere hatten in gleicher Zeit verschiedene Häutungen durchgemacht. Bei Erreichen des Imaginalzustandes durch die Kontrollen hatten die Versuchstiere günstigstenfalls die 5. Häutung hinter sich. Die ersten Imagines traten hier erst nach 10—11 Monaten auf.

Die Flügelstummel der Weibchen waren ebenso wie die Flügel der Männchen häufig abgespreizt und zudem teilweise nicht richtig entfaltet, was den Eindruck von „Verstümmelungen“ machte.

Bei den Kontrollweibchen nahm nach der letzten Häutung das Körpergewicht, infolge des einsetzenden Ovarienwachstums, stark zu. Eine derartige Beobachtung konnte bei den Versuchstieren niemals gemacht werden. Sogar nach mehreren Wochen hatte sich das Gewicht noch nicht wesentlich geändert. Die Untersuchung mit dem Binokular ergab, daß in allen symbiontenfreien Weibchen entweder keine oder doch nur sehr kleine, unentwickelte Ovarien zu finden waren. Histologische Schnittpräparate zeigten aber recht deutlich, daß in *allen* Tieren Ovarien angelegt waren, nur hatten sie häufig keine Weiterentwicklung erfahren und waren deshalb auf frühlarvalem Stadium stehen geblieben.

Das Auffällige an derartigen Präparaten bestand darin, daß die größten Oocyten anscheinend lytischen Prozessen unterworfen waren.

Jedenfalls war das Follikelepithel, besonders aber das Ei-plasma vakuoli-siert; eine derartige Degeneration war jeweils nur an den ältesten Eizellen zu beobachten. Die Abb. 6 zeigt einen Ausschnitt aus einem quer getroffenen Ei, das diese Vakuolisierungen, besonders des Ei-plasmas, deutlich erkennen läßt.

Von den Versuchstieren (Weibchen + Männchen etwa 600 Stück) wurde in keinem Fall ein Kokon abgelegt. Eine Ausnahme sei der Vollständigkeit halber erwähnt. Von einem Tier, das als Larve des 5. oder 6. Stadiums durch Penicillininjektion symbiontenfrei gemacht

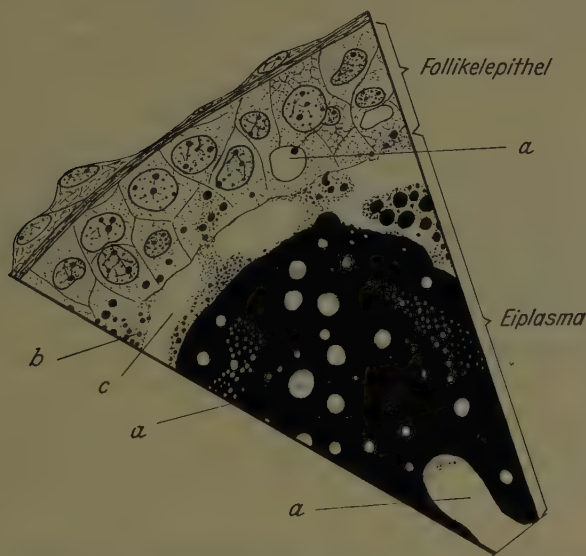


Abb. 6. *a* Vakuolen. *b* Degenerierendes Ei-plasma. *c* Zone in der das Plasma bereits gelöst ist. Vergr. 250mal

worden war, wurden nach Verwandlung zur Imago während eines längeren Zeitraumes in einem Abstand von jeweils 2—3 Wochen 5 Eier abgelegt, deren Eihüllen aber leider so wenig fest waren, daß eine Entwicklung nicht in Gang kommen konnte. Die Eier waren regelmäßig nach einem Tag verpilzt. Bemerkenswert ist außerdem die Tatsache, daß diese Eier niemals irgendwelche Kokonsubstanz aufwiesen. — Leider ist das Tier entwichen, so daß keine histologische Untersuchung erfolgen konnte. Auf Grund des Verhaltens ist aber zu vermuten, daß die Symbionten nicht restlos entfernt waren, sondern einzelne Bakteriocyten ihren Symbiontenbestand wieder nach und nach ergänzt hatten.

a) Versuche mit Stabheuschrecken. Um einen eventuellen direkten Einfluß des Penicillins auf die Ovarien von Insekten feststellen zu

können, wurden Stabheuschrecken (*Carausius morosus*) über mehrere Monate in zweitägigem Rhythmus mit Penicillin gespritzt. Wenn auch die Eiproduktion bei den Versuchstieren etwas geringer war als bei den Kontrollen, so dürfte dieser Effekt aber durch die fortlaufenden Injektionen hervorgerufen worden sein. Die Tiere zeigten über das Abdomen zerstreut Einstich neben Einstich. Es ist ohne weiteres möglich, daß durch die Kanüle gelegentlich auch Oocyten verletzt wurden, die dann der Resorption anheimfielen. Ein Unterschied zu den unbehandelten Tieren trat aber insofern auf, als häufig ganz kleine Eier abgelegt wurden, aus denen keine Jungtiere schlüpften. Derartige Mißbildungen kommen auch bei normalen Tieren vor, hier aber nur vereinzelt. Bei Corpora allata + cardiaca exstirpierten Tieren dagegen sind sie häufig (NEUGEBAUER). Inwieweit hier eventuell ein Zusammenhang besteht, ist bisher noch völlig ungeklärt.

Die für die Versuche verwendeten Tiere erhielten kurz nach der 5. Häutung die erste Injektion von 500 iE Penicillin, nach der 6. Häutung (Imaginalhäutung) 1000 iE. Die Einstichwunde wurde jeweils mit „Uhu-Klebstoff“ verschlossen, der sich nach vollzogener Wundheilung bequem wieder entfernen ließ. Die letzten Tiere starben erst $4\frac{1}{2}$ —5 Monate nach Versuchsbeginn.

Die Eiproduktion der Versuchs- und Kontrolltiere ist aus Tabelle 4 zu ersehen. Die Reihe der Kontrolltiere wurde vorzeitig abgebrochen.

Tabelle 4

	Anzahl der Tiere	Anzahl der Eier			Durch- schnitt je Tier und Tag
		normal	klein	%	
Versuchstiere:					
Imaginalhäutung zwischen					
28. 10.— 5. 11.					
—22. 11.	20	31	—	—	0,09
22. 11.—10. 12.	19	231	2	0,86	0,67
10. 12.—28. 1.	18	912	37	4,06	1,03
28. 1.— 2. 2.	14	93	20	21,5	1,32
2. 2.—13. 3.	10	214	32	14,9	0,55
Kontrolltiere:					
Imaginalhäutung					
24. 1.—25. 1.					
— 2. 2.	5	16	—	—	0,64
2. 2.—10. 2.	5	67	—	—	1,67
10. 2.—25. 2.	5	251	—	—	3,35
25. 2.—13. 3.	5	251	1	—	3,14

Bei allen Tieren mußte als Futter Efeu verwendet werden, und damit liegen die Werte ohnehin unter denjenigen der Tiere, die im

Sommer mit Flieder oder Linde gefüttert wurden. Hier steigen die Gipfelwerte bis zu einem Maximum von über 5 Eiern je Tier und Tag an.

b) Chloromycetin-Streptomycin. Die Auswirkungen bei der Verfütterung dieser Antibiotica waren ebenfalls so ähnlich, daß sie in diesem Zusammenhang gemeinsam besprochen werden können.

Nach der 1. Häutung der Junglarven hatten alle Versuchstiere eine etwas hellere Farbe als die Kontrollen. Nach der 2. Häutung (etwa 2 Monate nach Versuchsbeginn) traten jeweils innerhalb *einer* Versuchsreihe unterschiedlich gefärbte Tiere auf ($\frac{2}{3}$ heller, $\frac{1}{3}$ dunkler).

Weitere Häutungen zeigten diesen Unterschied immer deutlicher, bis schließlich der Zustand erreicht war, auf dem sich die *dunklen* Versuchstiere farblich nicht mehr von Kontrolltieren unterscheiden ließen.

Obgleich die Tiere *einer* Versuchsreihe in *einer* Schale gehalten wurden, ergaben sich entsprechend der Farbe der Tiere Größenunterschiede. Eine Untersuchung nach 6 Monaten ergab nun, daß die helleren, kleineren Tiere symbiontenlos, die Bakteriocyten der dunkleren aber prall mit Bakterien angefüllt waren. Es handelt sich dabei um die weiter vorne besprochenen, bei Chloromycetin auch morphologisch abgewandelten, resistenten Bakterien.

Damit war zugleich der Beweis erbracht, daß die symbiontischen Bakterien der Blattiden maßgeblich am Wachstum ihrer Wirte beteiligt sein müssen. Da die Tiere in *einer* Schale untergebracht waren, war auch das Mikroklima (Temperatur, Feuchtigkeit, Raumgröße usw.) für alle Tiere gleich. — Gefüttert wurde stets soviel, daß ein kleiner Rest übrigblieb.

Wenn die dunkel gefärbten Tiere in der Entwicklung aber trotzdem um etwa 1—2 Monate gegenüber den Kontrollen zurückblieben, so muß dies wohl auf die „Schockwirkung“ zurückzuführen sein. Die Bakterien waren am Anfang der Behandlung bei allen Tieren gramnegativ und konnten wahrscheinlich in diesem Zustand ihre normale Aufgabe im Haushalt der Tiere nicht erfüllen.

Die Gewichtsunterschiede der Tiere (Durchschnittswerte) sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

In Wirklichkeit verschoben sich die Verhältnisse wohl noch etwas mehr zugunsten der dunklen Tiere. Ein großer Teil der Schaben lag in Farbe und Größe zwischen den beiden Extremen; diese Exemplare wurden aber hauptsächlich zu der „symbiontenfreien“ Gruppe gezählt. — Es hatte sich erst später ergeben, daß diese Tiere noch einen Restbestand an Symbionten besaßen, der sich erst ganz langsam, nach Erlangung der Resistenz wieder ergänzte.

Von den dunkel gefärbten Versuchstieren wurden nach ihrer Verwandlung zu Imagines Kokons abgelegt. Sie unterschieden sich weder in

Tabelle 5. Gewichtsunterschiede zwischen symbiontenfreien Tieren und solchen mit resistenten Bakterien

Antibiotica	Helle Tiere		Dunkle Tiere		Alter
	Anzahl	Gewicht g	Anzahl	Gewicht g	
Chloromycetin . . {	140	0,06	62	0,20	etwa 6 Monate
	116	0,08	74	0,25	etwa 7 Monate
Erste männliche Imagines nach 7 $\frac{1}{2}$ Monaten					
Streptomycin . . {	80	0,05	38	0,12	etwa 6 Monate
	65	0,08	30	0,20	etwa 7 Monate
Erste männliche Imagines nach 8 $\frac{1}{2}$ Monaten					

Zahl, Größe noch Aussehen von denen der Kontrolltiere. Nach 4 bis 6 Wochen schlüpften daraus die Jungtiere. Dabei fiel auf, daß diese Larven eine hellere Färbung als gleichalterige Kontrolltiere besaßen. Obwohl im Ausstrichpräparat des Fettkörpers dieser Tiere Symbionten gefunden wurden, zeigten die Schnittpräparate, daß die Bakteriocyten nicht in der üblichen Weise gefüllt waren. Einige dieser Zellen hatten so wenig Symbionten in ihrem Plasma, daß sie bei flüchtiger Betrachtung den Eindruck völliger Symbiontenfreiheit machten. Es scheint auch, daß bei diesen Tieren nicht sämtliche Bakteriocyten besiedelt waren. Eine quantitative Auswertung, die hier hätte Klarheit schaffen können, ist aber nicht exakt möglich, weil nur ein Teil sicher als Bakteriocyten angesprochen werden konnte und dadurch von vornherein ein großer Fehler in die Auswertung hereingebracht worden wäre. Auf alle Fälle ergibt sich daraus: Die durch Chloromyceteeinwirkung resistent gewordenen symbiontischen Bakterien von *Periplaneta orientalis* sind nur noch zu einem geringen Prozentsatz fähig, die sich entwickelnden Ovarialeier zu infizieren.

Diese Erscheinung deutet darauf hin, daß die Symbionten durch die Antibioticaeinwirkung anscheinend gewisse physiologische Potenzen verloren haben, die notwendig sind, um die heranwachsenden Eier in üblicher Weise infizieren zu können. Gleichzeitig wird aber dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die Symbionten für die Embryonalentwicklung der Tiere nicht unbedingt notwendig sind. Weitere, später zu besprechende Versuche bestätigen diese Vermutung.

c) Aerosporin. Die Tiere, deren Futter Aerosporin zugesetzt war, zeigten ebensowenig irgendwelche Veränderungen wie ihre Symbionten. Die Farbe war während der ganzen Versuchsdauer normal. Leider konnten hier nur 5 Tiere untersucht werden, von denen während des Versuches noch ein Tier entwichen ist. Es wurde keine Schabe bis zur Imago gehalten. Sie wurden alle schon vorher für andere Untersuchungen benötigt. Da aber die Symbionten nicht einmal eine Ver-

änderung ihrer Gram-Färbbarkeit am Anfang der Behandlung zeigten, scheint die Annahme gerechtfertigt, daß auch keinerlei Einfluß auf die Ausbildung bzw. Infektion der Ovarialeier durch die symbiontischen Bakterien zu erwarten gewesen wäre.

d) **Penicillininjektionen.** Fünf männlichen und 5 weiblichen Schaben wurden täglich 2000 iE Penicillin-G-Natrium über 14 Tage hinweg gespritzt. Schon am 2. Tag waren die Bakterien gramnegativ, konnten aber noch nach 14 Tagen in den Fettkörperausstrichen nachgewiesen werden. In dieser Zeit wurden von den 4 Weibchen (1 Tier Exitus nach einem Tag) 8 Kokons abgelegt. Besonders die zuletzt abgelegten Kokons waren klein und zeigten bald Schrumpfung; sie waren eingetrocknet. Aus 3 normal geformten Kokons schlüpfen aber nach einiger Zeit 52 Larven aus, die gleich sehr hell blieben. Querschnitte durch diese Tiere ergaben völlige Symbiontenfreiheit.

Daraus konnte geschlossen werden, daß die Ovarialeier von den gramnegativen Symbionten nicht infiziert worden waren. Gleichzeitig war damit der Beweis erbracht, daß die Symbionten für die Embryonalentwicklung anscheinend nicht notwendig sind; dadurch wird die Vermutung, wie sie für die Chloromycetintiere ausgesprochen wurde, erhärtet. Auch hier war die Entwicklung bei nur mangelhafter Infektion normal verlaufen. Es scheint daraus hervorzugehen, daß die Symbionten für die Keimesentwicklung nur indirekt durch Produktion von „Wirkstoffen“ für die Ovarienreifung verantwortlich gemacht werden können. Von den Versuchstieren wurden keine weiteren Kokons mehr abgelegt, obwohl sie erst 2—3 Monate nach Beginn der Behandlung starben. Es ist zu vermuten, daß zunächst noch genügend „Wirkstoffe“ vorhanden waren, die ausreichten, um Eizellen für 1—2 Kokons zur Reifung zu bringen. (Ob allerdings jedes Tier Kokons abgelegt hat, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden.)

III. Vitaminversuche

Nach Verlust ihrer Symbionten zeigten die Versuchstiere eine wesentliche Wachstumsverzögerung. Da zunächst an eine Wirkstoffproduktion in Form von Vitaminen durch die symbiontischen Bakterien gedacht werden mußte, wurde durch Zusatz dieser Stoffe versucht, die Wachstumshemmung und eventuelle andere Ausfallserscheinungen auszugleichen. Zur Verwendung kamen Vitaminreinsubstanzen, Kombinationspräparate der Firma Merck, Darmstadt, außerdem Bäckerhefe und die Nektarhefe *Candida reukaufii*. Von Anfang an war zu vermuten, daß damit keine besonders günstigen Resultate erzielt werden konnten, da das verabreichte Futter schon Gewähr für eine ausreichende Vitaminversorgung bot (s. Tabelle 1).

Die bei diesen Versuchen erzielten Ergebnisse bestätigten diese Annahme. Zwar war in einzelnen Fällen, wie bei Zufütterung von Bäckerhefe, „Multibionta Merck“, „Polybion Merck“ + Folsäure eine geringfügige Wachstumsbeschleunigung festzustellen, aber der Ausfall der Ovarienreifung konnte auch durch diese Vitamine nicht kompensiert werden. In keinem Fall wurde von den Versuchstieren (500 Stück) ein Kokon abgelegt. Während bei der Mehrzahl der Tiere die Ovarien nur mit dem Binokular zu finden waren, zeigten die Tiere der Versuchsreihe „Polybion + Folsäure“ etwas größere Oocyten. Sie waren mit bloßem Auge zu sehen, aber gelangten ebenfalls nie zur Ablage.

Die verwendeten Vitamine und Vitaminpräparate sind aus Tabelle 6 ersichtlich

Tabelle 6. Vitamine und Vitaminpräparate

„Multibionta Merck“¹

Vitamin A	2500 iE	Pyridoxin	2,0 mg
Aneurin	1,0 mg	Vitamin B ₁₂	1 γ
Lactoflavin	1,5 mg	Folsäure	0,25 mg
Nicotinsäureamid	15,0 mg	Vitamin C	50,0 mg
Pantothensaures Calcium	5,0 mg	Vitamin D ₃	500 iE
		Vitamin E	2,0 mg

Vitaminreinsubstanzen

Folsäure (Pteroylglutaminsäure), Vitamin B₁ (Aneurin), Vitamin B₂ (Lactoflavin), Nicotinsäureamid, Vitamin B₆, pantothensaures Calcium
Außerdem: Bäckerhefe, Nektarhefe (*Candida reukaufii*)

„Polybion Merck“²

Vitamin B ₁ (Aneurin, Thiamin)	5 mg
Vitamin B ₂ Lactoflavin (Riboflavin)	2 mg
Nicotinsäureamid (Niacinamid)	20 mg
Pantothensaures Calcium	3 mg
Vitamin B ₅ (Adermin, Pyridoxin)	2 mg

¹ Mengen je Kapsel. Zur Verfütterung wurde nur der Kapselinhalt verwendet.

² Menge je Dragee. Zur Verfütterung wurde die Zuckerhülle entfernt und der Inhalt pulverisiert. Außerdem wurde dieser Mischung noch Folsäure zugesetzt.

Trotz Zufütterung von Vitaminen wurden bei den Versuchstieren nie die Größen erreicht, wie sie für normale Imagines charakteristisch sind. Das wirkte sich nicht nur im Gewicht aus, das bei den Weibchen durch die fehlende Ovarienentwicklung ohnehin geringer sein mußte, sondern auch in der Länge der Tiere. Während bei den weiblichen Schaben der Unterschied gewichts- und längenmäßig statistisch gesichert ist, wird diese Sicherung bei den Männchen nur in bezug auf das Gewicht erreicht. Aus Tabelle 7 geht hervor, daß die Versuchstiere unter der Größe der Kontrolltiere geblieben sind.

Tabelle 7. *Körpergewichte und -längen (Mittelwerte)*

		Gewicht g	Abwei- chung	σ	Länge mm	Abwei- chung	σ
Kontrolle	♀	0,7795	$\pm 0,0166$	0,091	31,059	$\pm 0,398$	1,64
	♂	0,4373	$\pm 0,0084$	0,0323	28,875	$\pm 0,268$	1,111
Versuchstiere	♀	0,4846	$\pm 0,022$	0,0796	27,733	$\pm 0,834$	3,203
	♂	0,3650	$\pm 0,0226$	0,1104	27,188	$\pm 0,311$	1,243
Differenz	♀	38,4%	mehrfach statistisch gesichert		10,7%	zweifach statistisch gesichert	
	♂	17,1%			6,1% statistisch nicht gesichert		

Um vergleichbare Werte zu erhalten, hatten alle Tiere 3 Tage kein Futter bekommen.

IV. Physiologische Versuche

1. Beeinflussung von Farbe und Sklerotisierung. Wie schon mehrmals erwähnt, trat stets bei Verringerung des Symbiontenbestandes eine Farbänderung auf, die auch nach gänzlicher Vernichtung der Bakterien erhalten blieb. Die jüngsten Larven normaler Tiere sind dunkelbraun, die älteren Larven und Imagines besitzen eine nahezu schwarze Färbung. Im Gegensatz dazu sind die symbiontenarmen bzw. -freien Junglarven gelbbraun, ältere Larven und Imagines mehr rötlichbraun gefärbt. Als weiterer, damit eng im Zusammenhang stehender Unterschied fiel die weniger starke Sklerotisierung der Versuchstiere auf.

Die Reaktion der Küchenschaben ist so charakteristisch, daß es möglich ist, die Farbe der Tiere als Kriterium für das Vorhandensein oder Fehlen der Symbionten heranzuziehen. Selbstverständlich kann diese Erscheinung jeweils erst nach einer Häutung auftreten. Imagines werden auch bei restloser Vernichtung ihres Symbiontenbestandes niemals mehr eine hellere Farbe erhalten. Dies ist ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß die Blattiden nach jeder Häutung rein weiß erscheinen und die Ausfärbung und Erhärtung der Cuticula erst allmählich einsetzt. Dieser Vorgang beschränkt sich auf Exo- bzw. Epicuticula, da die verschiedene Farbe an den Exuvien erhalten blieb.

Bei den Versuchstieren erfolgte weder eine normale Ausfärbung noch Sklerotisierung, was auf eine Abhängigkeit dieser Vorgänge von der Anwesenheit der Symbionten zurückgeführt werden muß. Die zu diesem Zweck angestellten Versuche scheinen einen Einfluß des cerebralen inkretorischen Systems auszuschließen.

a) *Schnürungsversuche am lebenden Tier.* Um eine eventuelle Klärung über den Vorgang der Ausfärbung der Schabencuticula zu erhalten, wurden mit dünnen Seidenfäden Schnürungen am lebenden Tier vorgenommen.

Die für diese Versuche verwendeten Tiere waren stets kurz vorher aus der Exuvie geschlüpft, zeigten also noch rein weiße Färbung. Geschnürt wurde zwischen Kopf und Thorax, damit war das Corpora-allata-cardiaca-System ausgeschaltet. Die 2. Schnürungsstelle sollte Thorax und Abdomen trennen. Aus Gründen der besseren Reproduzierbarkeit erfolgte diese Schnürung bereits zwischen dem 2. und 3. Beinpaar. Somit waren die Teile des Fettkörpers, in denen die Symbionten liegen, im letzten Drittel.

Bei allen Kontrolltieren ergab sich folgendes Bild: Der Kopf blieb weiß (nur die Mandibeln waren leicht gebräunt), der Thorax wurde braun, das Abdomen tief schwarzbraun (normale Färbung). Die Versuchstiere reagierten entsprechend. Der Kopf blieb weiß, der Thorax und das Abdomen erhielten eine braune Farbe. Interessant ist dabei, daß die Farbe der Versuchstiere identisch ist mit der Farbe des Thorax der geschnürten Kontrolltiere. Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt und hatten stets dasselbe Ergebnis.

Eine Beobachtung, die die Auffassung einer Abhängigkeit der Farbe von den Symbionten bekräftigt, sei kurz erwähnt. Die Schabe (*Loboptera decipiens* GERM.), ein Tier von etwa 8 mm Größe, besitzt als Imago eine schwarze Färbung. Die Larven des ersten Stadiums sind hellbraun. Aber nach der nächsten Häutung bietet sich ein anderes Bild. Das Abdomen (der Sitz der Symbionten) ist stark dunkel gefärbt, während der übrige Körper die hellbraune Farbe beibehalten hat. Die Exuvien zeigen, daß dieser schwarzbraune Komplex ebenfalls an Exo- bzw. Epicuticula gebunden sein muß. Es drängt sich im Zusammenhang mit den Versuchen an *Periplaneta* die Ansicht auf, daß die symbiontischen Bakterien für die dunkle Färbung dieser Schaben verantwortlich sind.

Wahrscheinlich könnten symbiontenfreie Tiere den Beweis dieser Vermutung erbringen; die Versuche darüber sind noch nicht abgeschlossen.

b) *Farbstoffversuche*. Eine Klärung über die Natur der Farbstoffe konnte nicht herbeigeführt werden. Es dürfte sich bei der helleren Farbe nicht, wie ursprünglich vermutet, um eine 2. Farbkomponente handeln, sondern nur um eine Zwischenstufe der definitiven, dunklen Farbe. Der Vollständigkeit halber sei aber erwähnt, daß die Prüfung auf Pterine, als eventuelle hellere Komponente, stets negativ verlief; eine ammoniakalische Extraktion war nicht möglich (s. BREDERECK, H. 1951).

Die Fähigkeit zur Bildung von Melanin ist in den Extrakten der Versuchstiere zwar oft beträchtlich verzögert, aber doch vorhanden. Die Prüfung erfolgte nach den Methoden von THUNBERG, T. (1951) und RAPER, H. S. (1941).

c) *Sklerotisierung*. Über die bei den Versuchstieren weniger starke Erhärtung der Cuticula wurden keine exakten Messungen ausgeführt. Es ist jedoch ziemlich wahrscheinlich, daß bei den Schnürungen der Kontrolltiere (s. dort) der Thorax, der nur eine braune Farbe angenommen hatte, weniger sklerotisiert war

2. *Beeinflussung der Ovarienausbildung*. Wie unter III. aufgeführt, war eine Stimulierung des Ovarienwachstums durch Vitamine nicht zu erzielen. Sollten die Symbionten aber tatsächlich einen Wirkstoff produzieren, den die Eizellen zu ihrer Reifung benötigen, so mußte dieser Stoff im Fettkörper enthalten sein. — Die Ovarien sind ganz von Fettkörper umgeben und könnten diesen „Stoff“ nur über das Blut oder direkt über den Fettkörper aufnehmen. — In jedem Fall wäre dann dieser Wirkstoff dort vorhanden. Dabei ist zunächst ohne Bedeutung, ob die Symbionten direkt oder nur indirekt an der Produktion beteiligt sind. Gab es tatsächlich einen derartigen Stoff, so bestand die Wahrscheinlichkeit, daß die im Fettkörper enthaltene Substanz für einen Nachweis ausreichte, da die vermutlich benötigten Mengen nur gering sein dürften.

Um diese Überlegungen nachzuprüfen, wurde aus weiblichen Kontrollimagines der Fettkörper unter dem Binokular herauspräpariert und darauf geachtet, daß Anhangsdrüsen der Geschlechtsorgane, Ovarien, Malpighische Gefäße usw. zurückblieben. Die Tötung der Tiere erfolgte durch Dekapitieren, um eventuelle schädigende Einflüsse von Narkotica zu vermeiden. Der entnommene Fettkörper wurde in einer Reibschale fein zerrieben und mit 0,6%iger NaCl-Lösung (je Fettkörper 0,25 cm³) weitgehend emulgiert. Wie Vorversuche ergeben hatten, waren durch anschließendes hochtouriges Zentrifugieren (10000 U/min) die gröberen Partikel und die Mehrzahl der Bakterien zu entfernen. Die überstehende, nur noch leicht trübe Lösung und die darauf schwimmende Fettschicht wurden abgehebert und unter Zusatz von Penicillin (800 iE/cm³) abermals emulgiert. Der Penicillinzusatz sollte die noch in der Suspension verbliebenen Symbionten und Luftkeime abtöten. Ausstrichpräparate dieser Suspension zeigten etwa 1 Std nach Entnahme des Fettkörpers aus dem Tier keine Bakterien.

Von der so vorbereiteten Lösung wurde in 5 symbiontenfreie weibliche Imagines jeden 2. Tag $\frac{1}{100}$ cm³ injiziert. Diese 5 Tiere waren mit 5 symbiontenfreien Männchen zusammen in einer Schale. Nach 13 Tagen war bei einem Weibchen eine Kokonanlage zu sehen, die die Tiere leider während der Nacht auffraßen. Im Verlauf von weiteren 25 Tagen gelangten von diesen Versuchstieren nochmals 6 Kokons zur Ablage. Sie waren sehr klein und teilweise nicht vollkommen ausgebildet, außerdem waren sehr rasch Schrumpfung festzustellen. Es gelang in keinem Falle, daraus eine Larve zu erhalten.

In diesem Zusammenhang dürfte aber zunächst wohl mehr die Tatsache interessieren, daß es überhaupt möglich war, das Wachstum der Ovarien dieser Tiere zu steigern, so daß ein Kokon gebildet werden konnte. Wahrscheinlich wäre es möglich, bei geeigneter Konzentrierung der Fettkörpersuspension normale Ovarienentwicklung zu erreichen. — Die Versuche mußten abgebrochen werden, da nicht mehr genügend Kontrollimagines infolge der verspäteten Verwandlung der Versuchstiere zur Verfügung standen.

Mit diesen wenigen Versuchen konnte aber doch wahrscheinlich gemacht werden, daß sich im Fettkörper von symbiontenführenden weiblichen Küchenschaben ein „Stoff“ findet, der das Ovarienwachstum dieser Tiere beeinflußt. Weitere Versuche wurden bisher nicht unternommen, doch sind sie ins Auge gefaßt.

3. Papierchromatographische Untersuchungen. Um einen eventuellen Unterschied in der Zusammensetzung der Eiweiße von symbiontenführenden und -freien Schaben ermitteln zu können, wurde versucht, die einzelnen Aminosäuren auf papierchromatographischem Wege nachzuweisen. Wie schon wenige Analysen ergeben haben, besteht anscheinend in der Aminosäurezusammensetzung der Eiweiße beider Tiergruppen in qualitativer Hinsicht Übereinstimmung.

V. Untersuchung der Kernverhältnisse der symbiontischen Bakterien

Die Erforschung der Kernstrukturen bei den Bakterien ergab in den beiden letzten Jahrzehnten so eindeutige Ergebnisse, daß heute kein Zweifel mehr darüber bestehen kann, daß auch den Bakterien ein Körper zukommt, der in vielem dem Kern höherer Organismen entspricht. Man bezeichnet ihn allgemein als „Nukleoid“ oder „Kernäquivalent“. Die früheren Untersuchungen waren stets dadurch erschwert, daß durch den hohen Gehalt (10—15%) des Plasmas an Ribonukleinsäure (BOIVIN und VENDRELY 1943) der Kern sowohl elektronenmikroskopisch als auch mit Färbungen nach Art der Giemsa-Lösung maskiert war und nicht unterschieden werden konnte. Erst die Einführung der Säurehydrolyse für die Lichtmikroskopie und die Zucht der Bakterien auf N-armen Nährböden für die Elektronenmikroskopie konnte den Nachweis für das tatsächliche Vorhandensein von Kernäquivalenten in der Bakterienzelle erbringen.

Die grampositiven symbiontischen Bakterien der Küchenschaben eignen sich infolge ihrer beträchtlichen Größe gut für cytologische Untersuchungen. Sie befinden sich in einem für sie vermutlich optimalen physiologischen Milieu und stehen ständig unter reproduzierbaren Bedingungen zur Verfügung.

Es wurde versucht, bei diesen symbiontischen Bakterien die Kerne zur Darstellung zu bringen. In allen untersuchten Fällen trat mit

großer Regelmäßigkeit ein Bild zutage, das in der Querachse des Bakteriums 2 Körper zeigte, die ihrem färberischen Verhalten nach als Kernäquivalente anzusprechen sein dürften, wenngleich ihre Anordnung eine Interpretation wesentlich erschwert.

Die Fixierung erfolgte für alle Untersuchungen mit Methanol-Formaldehyd (MURRAY 1953)¹. (Die ersten Versuche, die mit einfacher Hitzefixierung ausgeführt worden waren, hatten allerdings ähnliche Strukturen erkennen lassen.) Die Fixierungsdauer betrug 15–20 min, wobei der Fettkörper direkt, ohne Verteilung in destilliertem Wasser, zerrieben wurde und der Ausstrich vor vollständiger Trocknung in die Fixierungslösung kam. Für die Feulgen-Präparate kamen darauf die Objektträger für 24 Std in 96% Alkohol, während bei den anderen Methoden meist nur das Formalin ausgewaschen wurde.

a) **HCl-Giemsa-Methode.** Zur Hydrolyse diente $n/1$ HCl bei 60° C. Als geeignete Hydrolysezeit hatten sich 8–10 min erwiesen.

Bei normalen Bakterien waren die Doppelgebilde meist in Einzahl vorhanden, während die verlängerten Antibioticaformen mehrere solcher in der Querachse angeordnete Körper zeigten. In keinem Fall konnte eine durchgehende Linie gefunden werden. Ferner ist bemerkenswert, daß die Körper stets rund oder oval waren und nie einen kontinuierlichen Übergang in die Bakterienwandung erkennen ließen, wie dies für die Entstehung einer neuen Wand verschiedentlich abgebildet worden ist. Das Plasma der Zelle war nur leicht angefärbt und erschien optisch leer.

b) **Feulgen-Reaktion.** Um eine unbedingt erforderliche Nachprüfung dieser Ergebnisse durchführen zu können, wurde die auf Desoxyribonukleinsäure (DNS) spezifisch reagierende Feulgen-Methode angewendet. Die Hydrolysezeit wurde belassen, die Einwirkung des SCHIFFSchen Reagens variiert. Die Mehrzahl der Zellen zeigte keine Reaktion, aber vereinzelt waren Zellen zu erkennen, die sehr deutlich im Hellfeld mit Grünfilter die gleichen Körper erkennen ließen.

c) **Anwendung von Ribonuklease.** Giemsa-Lösung ohne Hydrolyse ergab auch bei den symbiontischen Bakterien eine intensive Färbung der gesamten Zelle. Eine Differenzierung zwischen Kernäquivalenten und Plasma war zu einer elektiven Anfärbung der DNS-Komplexe unbedingt erforderlich. Nach der Methode von TULASNE u. a. (1947 a, b und c) wurde mit Hilfe des spezifischen Fermentes, der Ribonuklease, die Ribonukleinsäure des Plasmas entfernt. Die Ribonuklease² kam in 0,2% Lösung bei 60° und einer Einwirkungsdauer von 15–20 min zur Anwendung. Durch die schon von den ersten Bearbeitern erwähnte

¹ Für die Überlassung eines Sonderdruckes dieser Arbeit bin ich Herrn Prof. Dr. G. PIEKARSKI zu besonderem Dank verbunden.

² Ribonuklease krist. (salzfrei) der General Biochemicals, Inc. Laboratory Park, Chagrin Falls, Ohio.

leichte Aufblähung der gesamten Zelle waren bei anschließender Giemsa-Färbung (besonders gut im Phasenkontrast), wieder die schon bekannten beiden Körper zu sehen. Infolge der leichten Quellung ergab sich hier ganz eindeutig, daß zwischen diesen Körpern keine Desmosomen auftraten. — Ein Teil der Zellen zeigte keinerlei Strukturen, während bei anderen, meist an der Wandung anliegende, runde Körper zu sehen waren. Vereinzelt fanden sich auch Zellen, die gerade ihre Teilung



Abb. 7a u. b. Beide Mikrophotographien wurden nach Präparaten angefertigt, deren RNS-Anteil durch Behandlung mit Ribonuklease entfernt worden war. Vergr. etwa 2000mal

vollzogen hatten, wobei die Tochterzelle und die Mutterzelle noch in Verbindung standen. In diesem Zustand konnte ganz eindeutig jeweils



Abb. 8. *a* Typische Anordnung in der Querachse. *b* Vakuole. *c* Weitergabe an die Tochterzelle? *d* Verschiedentlich waren die Strukturen nur in Einzahl vorhanden

nur *einer* dieser Körper je Zelle gefunden werden. Auf den Mikrophotographien 7a und b sind sowohl die beschriebenen Doppelkörper als auch die teilweise einzeln an der Wand liegenden basophilen Gebilde zu erkennen. In der Abb. 8 sind die verschiedenen Stadien zusammengestellt, besonders auch die auf den Photographien nicht getroffenen Strukturen, die eventuell mit der Weitergabe der DNS-Komplexe in Verbindung gebracht werden können.

Die Übereinstimmung der Ergebnisse dieser 3 Methoden erlaubt wohl die Auffassung, daß es sich bei den hier dargestellten Körpern ebenfalls um eine Lokalisation von Kernsubstanz handelt. Da bisher noch niemals eine derartige Anordnung der Kernäquivalente als ein Dauerzustand gefunden wurde, dürften die symbiontischen Bakterien der Blattiden für weitere Untersuchungen der Kernverhältnisse ein nicht ungünstiges Objekt darstellen.

D. Diskussion

Wie die vorliegenden Ergebnisse gezeigt haben, läßt sich mit Hilfe der Antibiotica eine Sprengung des als intrazelluläre Symbiose bezeichneten Bündnisses erzielen.

Schon 1945 hatten BRUES und DUNN versucht, die Symbionten der Floridaschabe (*Blaberus cranifer*) durch Injektion von Penicillin und Sulfonamiden zu vernichten. Mit einer höheren Dosis Penicillin (6000 E) gelang es, bei einem Tier die Symbionten zu entfernen, während die 2. Schabe nach 12 Tagen starb. Geringere Dosierung verringerte zwar die Anzahl der Bakterien, doch schien bei normalem Weiterleben wieder eine Vermehrung einzutreten. BRUES und DUNN schlossen daraus: "We can not regard the present results as conclusive evidence that the bacteroids are necessary for the continued life of the cockroaches, but they make it appear very probable that such is the case and that they are symbiotic, and not parasitic, microorganisms." — KELLER (1950) kann sich dieser Ansicht nicht anschließen und sieht in dem Tod der Tiere eine toxische Nebenerscheinung, die durch unreine Penicillinpräparate verursacht worden ist.

Über die Wirkungsweise der symbiontischen Bakterien von Blattiden (*Periplaneta americana*) gaben die Versuche von GLASER (1946) etwas genauere Aufklärung. Er entfernte die Bakterien durch Natrium- und Calcium-Penicillin, durch Natriumsulfathiazol und durch erhöhte Temperatur. Die Folge war eine Reduktion der Ovarien, die bei einem Teil der Tiere nicht mehr zu finden gewesen sein sollen.

MUSGRAVE und MILLER (1951) fütterten *Sitophilus granarius* (L) und *S. oryzae* (L) mit Weizenkörnern, die vorher in Terramycinlösung getränkt worden waren. Aus der hohen Sterblichkeit (bis zu 84%) der symbiontenführenden *S. oryzae* schlossen sie auf die Wichtigkeit der Symbionten für die Tiere. — H. SCHNEIDER (1954) verwendete bei *Calandra granaria* zur Vorbereitung des Futters Aureomycinlösung und erreichte mit derartigem Getreide einen Abbau der Symbionten.

Meine eigenen Versuche mit *Periplaneta orientalis* ergaben eindeutig, daß der Verlust der Symbionten verschiedene Veränderungen an den Tieren hervorruft; die Vitalität wird aber in keiner Weise beeinträchtigt. Die Bakterien zeigten unter dem Einfluß der Antibiotica charakteristische Reaktionen, die ganz allmählich zu ihrem Abbau führten.

1. Morphologische und physiologische Veränderungen der Bakterien

Der meist kurz nach Beginn der Antibioticabehandlung einsetzende Wechsel der Gramfärbbarkeit nach gramnegativ wurde schon früher bei anderen Mikroorganismen beobachtet (DUFRENOY und PRATT 1947, KLIMEK, CAVALLITO und BAILEY 1948). — Unterblieb der Antibiotica-zusatz vor dem restlosen Abbau der symbiontischen Bakterien, so fanden sich einige Zeit später wieder grampositive Symbionten. Die Änderung der Gramreaktion ist also zweifellos als eine Wirkung der Antibiotica zu betrachten, die wahrscheinlich eine Störung des Stoffwechsels verursachen (STEINBERG 1952, UMBREIT 1953). Ähnlich

verliefen die Versuche von BELLAMY und KLIMEK (1948), denen es gelang, einen durch Penicillin gramnegativ gewordenen Stamm von *Staph. aureus* bereits nach 2 Passagen auf einem Nährboden ohne Antibiotica wieder grampositiv zu machen, während FLEISCHHAUER (1953) noch nach 13 Passagen keine Rückverwandlung erzielen konnte.

Die eigenen Untersuchungen ergaben bei Verfütterung von Chloromycetin (1%) nach 3—4 Monaten noch gramnegative Symbionten. Sie waren wesentlich verlängert und an einzelnen Stellen „gebläht“. Ein Wachstum hatte also zweifellos stattgefunden, wenn auch die Zellteilung wohl meist unterdrückt worden war. Auch BOIVIN und Mitarbeiter (1947) und TULASNE u. a. (1948a und b, 1949) stellten mit Penicillin und Streptomycin eine Hemmung der Teilung bei gleichzeitigem Wachstum der Bakterien fest. BERGERSEN (1953) beobachtete bei *E. coli* unter Chloromycetinwirkung neben einer Längenzunahme auch eine Verzweigung der Zellen. — Bei den Symbionten wurden derartige Formen nie gefunden.

Penicillin bewirkte bei den symbiontischen Bakterien eine Zellverlängerung, wie dies schon von ABRAHAM (1949), HOLZER (1947), REDECKER (1946) und SHANAHAN (1948) für verschiedene Mikroorganismen festgestellt wurde, jedoch waren hier nie die von GARDNER (1940) beschriebenen extremen Werte zu erreichen. Die von PENSO (1947) und KELLENBERGER und WERNER (1948) mit Streptomycin unter dem Elektronenmikroskop beobachtete hohe Turgeszenz der Zellen bei gleichzeitiger Schrumpfung des Plasmas ließ sich an den Symbionten nicht nachweisen.

Bei Streptomycin und höherer Dosierung von Chloromycetin (5%) traten resistente Symbiontenpopulationen auf. Die Bakterien zeigten hierbei zwar keine „Anschwellungen“ des Zelleibs, jedoch blieb die oft mehrfache Verlängerung erhalten. Anfänglich gramnegativ, reagierten die resistenten Symbionten später wieder grampositiv. — Unter der Streptomycinwirkung erscheint die Resistenzentwicklung verständlich, da es im allgemeinen als *das* Antibioticum mit rascher Resistenzsteigerung bekannt ist; sie überrascht dagegen für Chloramphenicol, das zusammen mit Terramycin und Aureomycin zu den Breitspektrumsantibiotica gehört. — Vielleicht ist die Ursache in einer Verwandtschaft der Symbionten zu den Corynebakterien zu suchen (GLASER, GIER und KETCHEL stellen sie in diese Gruppe). Chloromycetin wird für die Bekämpfung derartiger Erreger wegen seiner geringeren Wirksamkeit weniger verwendet, während Aureomycin und Terramycin auch hier positive Resultate ergeben. — Bei einem Teil der Tiere gelang es allerdings, unter denselben Bedingungen die symbiontischen Bakterien restlos zu entfernen, was darauf hindeutet, daß es sich bei der oben

geschilderten Erscheinung um „erworbene“ Resistenz handelt. Gegen Polymyxin B besitzen die Symbionten dagegen „natürliche“ Resistenz (s. WALTER 1954).

Die Versuchstiere mit resistenten Symbionten brachten normale Kokons zur Ablage. Die Larven der F_1 -Generation besaßen aber nur mangelhaft besiedelte Bakteriocyten. Ob für diese Erscheinung die „Infektionsformen“ verantwortlich zu machen sind oder ob die Vermehrung der Bakterien nicht normal erfolgte, kann nicht entschieden werden. Das weitere Verhalten dieser Tiere und der F_2 -Generation ist noch unbekannt.

Auch medizinisch wird dem Problem der resistenten Mutanten in jüngster Zeit größere Beachtung geschenkt, wenn auch vorläufig die Ergebnisse noch keine praktische Bedeutung erlangt haben. BLOCH und Mitarbeiter (1953), HERRMANN und KUHLMANN (1954), PEIZER und Mitarbeiter (1953) und STEENKEN u. a. (1953) konnten für das *Mycobacterium tuberculosis* einen völligen oder partiellen Verlust der Pathogenität für Meerschweinchen feststellen. Am Menschen sind bisher aber anscheinend keine derartigen Ergebnisse erzielt worden.

2. Die Kernverhältnisse der Symbionten

Die Untersuchung der Kernstrukturen der Symbionten ergab gut sichtbare Körper, die in dieser Weise — Anordnung von 2 runden bis ovalen Gebilden in der Querachse — bisher nicht beschrieben worden sind. Es konnten dabei ständig die gleichen Ergebnisse erzielt werden.

Da zunächst mit Hitzefixierung gearbeitet wurde, ist die schriftliche Mitteilung PIEKARSKIS, daß es sich dabei möglicherweise um die Anlage der neuen Querwand handle, durchaus verständlich. Nach BISSET (1952) reagiert die junge Querwand ebenfalls basophil. Die regelmäßig wiederkehrende Lokalisation der Strukturen verleitet sehr leicht zu dieser Ansicht. Zudem ist bekannt, daß sich diese Art der Fixierung als zu „roh“ für die Erhaltung der Kernstrukturen erwiesen hat. Deshalb wurde später ausschließlich mit einer von MURRAY (1953) angegebenen Fixierung gearbeitet, die sich für die Erhaltung der Bakterienkerne als brauchbar gezeigt hatte; die Ergebnisse waren aber überraschenderweise dieselben. Auch bei der Anwendung der Nuklealreaktion nach FEULGEN (1939) und FEULGEN und Mitarbeitern (1924a und b) zeigten sich, allerdings nur vereinzelt, die in der Querachse liegenden Gebilde.

Bei Verwendung von Ribonuklease wurden infolge der elektiven Entfernung der Ribonukleinsäure des Plasmas (TULASNE und VENDORÉLY 1947a) besonders klare Bilder erzielt. Die von diesen Autoren erwähnte „Blähung“ der so behandelten Zellen machte das Fehlen jeglicher Desmosomen zwischen diesen Strukturen zur Gewißheit.

Die mit Giemsa-Lösung angefärbten Gebilde erinnern zunächst an eine neue Querwand, aber im Vergleich mit den Abbildungen von MIGULA (1894, 1897) und den Mikrophotographien von ROBINOW (1946) lassen sich gewisse Unterschiede feststellen. Sie zeigen zwar ebenfalls „irisblendenartiges Wachstum“, wie es auch elektronenoptisch an Schnitten durch *Bacillus cereus* von CHAPMAN (1953) beschrieben wurde, aber das kontinuierliche Herauswachsen aus der Zellwand konnte niemals beobachtet werden. Die bei den symbiontischen Bakterien dargestellten Strukturen befinden sich stets *neben* der Wand. NEUKOMM beschrieb bereits 1927 die Teilung der Symbionten. Seine Abbildungen zeigen die für Bakterien üblichen Vorgänge, bei denen schließlich die neu-gebildete Wand als durchgehende Querlinie zu erkennen ist.

Nach Untersuchungen von WALLHÄUSSER (1952) scheint die Bildung der Querwand in irgendeiner Beziehung zu den Desoxyribonukleinsäurekomplexen der Kernäquivalente zu stehen. Er konnte mit Triphenyltetrazoliumchlorid Reduktionsorte in Bakterien sichtbar machen, die er infolge ihrer Verteilung in der Zelle in Beziehung zu den Nukleoiden bringt. Die zunächst über die ganze Zelle zerstreuten „Körnchen“ wandern, nachdem die Zelle ihr Maximum an Ausdehnung erreicht hat, nach der Mitte hin. „An dieser Stelle — mitten durch die Ansammlung der Reduktionsorte hindurch — wird nun die neue Querwand angelegt.“ In diesem Zusammenhang dürfte es nicht uninteressant sein, daß schon MIGULA (1894) von Körnchen sprach, denen er chromatische Eigenschaften zuschreibt und die ebenfalls zu der Stelle hinwandern, an der die neue Wand zur Ausbildung kommt.

Während WALLHÄUSSER (1954) die Orte der Formazanbildung wiederum in Verbindung zu den Nukleoiden bringt und BIELIG und Mitarbeiter (1949, 1952) zu derselben Ansicht gelangen, lehnen PREUNER und Mitarbeiter (1952) und HAHN (1952) diese Auffassung ab. KELLENBERGER und HUBER (1953) sehen die Reduktionsorte als Stoffwechselkörperchen an, die sie in Anlehnung an die „Nukleide“ als „Chondri-*oide*“ bezeichnen.

Ob die hier diskutierten Strukturen mit den von ROBINOW (1946), PIEKARSKI (1949, 1951) und BRINGMANN (1952) beschriebenen „Kernäquivalenten“ identisch sind, ist vorläufig nicht zu entscheiden. Die Vermutung, daß in diesen Gebilden mindestens ein gewisser Teil von Desoxyribonukleinsäure lokalisiert ist, scheint aber gerechtfertigt.

3. Veränderungen an den Wirtstieren nach Symbiontenverlust

a) **Färbung.** Nach Verlust der Symbionten trat als auffälligstes Merkmal eine hellere Farbe und eine weniger starke Sklerotisierung der Cuticula auf. Wahrscheinlich liegt dieser Erscheinung eine Störung

des Stoffwechsels zugrunde, wobei zunächst noch nicht gesagt werden kann, in welcher Weise die Bakterien in diesen komplexen Vorgang eingreifen.

MALEK (1952) fand ein Lipoprotein, das bei Anwesenheit von o-Chinonen eine Bräunung erfährt und das dem von WIGGLESWORTH (1947, 1948) beschriebenen Cuticulin sehr ähnlich ist. Eine Selbstbräunung der Eiweiße kann nicht erfolgen. HACKMAN (1953) wies eine Polyphenoloxydase nach, unter deren Einfluß die Erhärtung der Insektencuticula erfolgt, allerdings ist dieser Vorgang nicht mit der Melaninbildung identisch, da sich auf spektroskopischem Wege ein Unterschied zwischen den erhärteten Proteinen und Melanin ergab.

Durch orientierende Versuche an *Loboptera decipiens* ist die vermutete Abhängigkeit der Ausfärbung der Cuticula von den Symbionten weiter erhärtet worden. Es ist immerhin auffällig, daß die dunkel gefärbte Zone nur das Abdomen — den Sitz der Symbionten — erfaßt und unvermittelt in die hellere Thoraxregion übergeht. Die Exuvien dieser Tiere zeigten, daß die Farbe tatsächlich an Exo- oder Epicuticula gebunden sein muß, da die verschiedene Färbung auch daran erhalten blieb. Damit erscheint es wahrscheinlich, daß die Farbänderung nach Symbiontenverlust in dem von MALEK (1952) beschriebenen, in der Epicuticula lokalisierten Komplex verursacht wird.

Auch bei anderen Tieren kann ein Zusammenhang zwischen den Symbionten und der Farbgebung bestehen, wie MAHDIHASSAN (1946) an Cicadella-Arten nachweisen konnte. BUCHNER (1912) erwähnt Pigmentgranula, deren Herkunft auf Symbionten zurückzuführen war. Nach einer Bemerkung von H. SCHNEIDER (1954) besteht auch zwischen der einheimischen, symbiontenführenden *Calandra granaria* und der ägyptischen Lokalrasse, die ihre Symbionten eingebüßt hat, ein Unterschied in Farbe und Größe.

b) Beeinflussung des Wachstums. Die vorwiegend von BUCHNER und seinen Schülern angenommene Möglichkeit einer Vitaminproduktion durch symbiontische Mikroorganismen ließ sich bei verschiedenen Insekten bestätigen, während sich einige andere Versuchstiere nicht in entsprechender Weise verhielten (KOCH 1933a und b, 1937; ASCHNER und RIES 1932; PUCHTA 1954). — Die Blattiden stellen für ernährungsphysiologische Versuche schon seit längerer Zeit ein beliebtes Objekt dar, wenn auch bisher nur symbiontenführende Tiere verwendet werden konnten. — WOLLMAN (1926) gelang die aseptische Zucht von *Blattella germanica*. Er konnte während 5 Jahren (14 Generationen) keinerlei Mangelerscheinungen an den Tieren beobachten. BODE (1936) kam bei *Periplaneta orientalis* zu einem anderen Resultat; seine ebenfalls aseptisch gezüchteten Schaben zeigten oft bis zu 100 Tagen kein nennenswertes Wachstum, und die Sterblichkeit betrug verschiedentlich bis zu 80%.

Bei späterer Reinfektion der Nahrung mit *Penicillium*-Konidien gelang es, ein gesteigertes Wachstum zu erzielen, so daß nach 3 Monaten annähernd die Größe der Kontrolltiere erreicht war. BUCHNER (1953) lehnt diese Versuche allerdings als unzureichend ab. In der Folge beschäftigten sich noch viele andere Autoren mit ähnlichen Problemstellungen. Es seien hier erwähnt: MELAMPY und MEYNARD (1937), McCAY (1938), BOWERS (1940), BOWERS und McCAY (1940), METCALF und PATTON (1942), HOUSE (1949a und b), HOUSE und PATTON (1949), HILCHEY (1953), NOLAND und BAUMANN (1949), NOLAND, LILLY und BAUMANN (1949) und NOLAND (1951).

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse und den zahlreichen Veröffentlichungen über den Vitaminbedarf der Insekten durch G. FRAENKEL und Mitarbeitern (1942—1953), FRÖBRICH und OFFHAUS (1939—1953) und von GROB und Mitarbeiter (1945) wurden nach Entfernung der Symbionten dem ohnehin hochwertigen Futter noch Vitamine in verschiedener Form zugesetzt. Eine wesentliche Beeinflussung der Tiere war aber gegenüber solchen, die das normale Futter ohne weitere Zusätze bekamen, nicht zu erzielen. Die Ovarien blieben bei allen Tieren sehr klein, nur bei Zufütterung von „Polybion-Merck“ + Pteroylglutaminsäure waren sie — in toto betrachtet — etwas größer. Ein Kokon wurde durch die symbiontenfreien Tiere in keinem Fall abgelegt. — Von einer Verwendung des Vitamin T-Goetsch wurde abgesehen, da KOCH (1951) und KOCH und Mitarbeiter (1951) die Anwesenheit eines neuen Wirkstoffes in diesem Präparat ablehnten und die tatsächlich vorhandene Wirkung auf eine Kombination bekannter Hefefaktoren zurückführen. Auch KAUDEWITZ (1953) fand bei *Tenebrio molitor* keine Wachstumssteigerung. Die Beeinflussung, die GOETSCH (1949) mit seinem Präparat bei Blattiden erzielen konnte, betraf lediglich eine Verschiebung der Proportionen zwischen Kopf und Körper.

Der hohe Wuchsstoffgehalt des Fettkörpers vieler Insekten, der nur noch durch die Werte des Darms übertroffen wird, scheint die Herkunft dieser Stoffe aus der Nahrung oder deren Synthese oder chemische Veränderung durch die Mikroorganismen des Darmes zu bestätigen (BUSNEL und DRILHON 1943, KAUDEWITZ 1953). — Betrachtet man in diesem Zusammenhang das häufig große Wuchsstoffbedürfnis vieler Mikroorganismen, so wäre nicht ausgeschlossen, daß auch die symbiontischen Bakterien der Blattiden derartige Stoffe benötigen und selbst wieder andere, für die Tiere wichtige Substanzen produzieren. Möglicherweise sind die zahlreichen negativen Kulturversuche der Symbionten auf eine Vernachlässigung dieser Wuchsstoffe zurückzuführen.

Die Antibiotica scheinen in der relativ hohen Dosierung, wie sie zur Entfernung der Symbionten angewendet wurden, einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Schaben auszuüben. Im Vergleich mit

solchen symbiontenfreien Tieren, die nur noch normales Futter erhielten, war ein geringer Größenunterschied zu erkennen. Der Widerspruch zu den Versuchen von MURTHY (1953), der nun auch für Insekten (*Bombyx mori*) die wachstumsstimulierende Wirkung der Antibiotica nachweisen konnte, dürfte aber in den wesentlich geringeren Mengen zu suchen sein (25 mg je Kilogramm Futter).

c) **Unterdrückung der Ovarienentwicklung.** Histologische Schnittpreparate durch symbiontenfreie Imagines zeigten als auffälliges Merkmal infantil gebliebene Ovarien, bei denen die ältesten Oocyten deutliche degenerative Prozesse erkennen ließen.

Ähnliche Verhältnisse lagen vermutlich auch bei BRECHER und WIGGLESWORTH (1944) vor, die bei *Rhodnius prolixus* nach Entfernung der symbiontischen Mikroorganismen keine Ovarienentwicklung feststellen konnten. Wurden aber derartige „sterile“ Tiere mit normalen gemeinsam gehalten, so infizierten sie sich über die Faeces und die Ausfallserscheinungen verschwanden wieder. PUCHTA (1954) gelang es bei symbiontenfreien Larven der Kleiderlaus — die er nach einer verbesserten Methode von ASCHNER (1934) durch Zentrifugieren der Eier erhalten hatte — durch Fütterung mit defibriniertem Blut + Vitaminen eine Verwandlung bis zur Imago zu erzielen. Die Imagines starben aber meist nach kurzer Zeit, ohne ein Ei zur Ablage gebracht zu haben. Die Untersuchung ergab in jedem Ovidukt ein vollentwickeltes (?) Ei in einem fortgeschrittenen Stadium des Zerfalls. Damit war es PUCHTA gelungen, den Eintritt des Todes zwar wesentlich hinauszuzögern — bei den Versuchen von ASCHNER und RIES (1932) starben symbiontenfreie Tiere bedeutend früher —, aber der wesentlichste Effekt, die Ablage reifer Eier, blieb auch hier aus. Der degenerative Prozeß der jeweils ältesten Oocyten, wie er bereits von ASCHNER und RIES (1932) beschrieben wurde, konnte durch die Vitamine anscheinend nur zeitlich verschoben werden.

Wahrscheinlich sind für die Ovarienreifung, wenigstens bei den Blattiden, irgendwelche Stoffe verantwortlich zu machen, die im Fettkörper abgelagert werden. Die Injektion von Fettkörperemulgaten normaler reifer Weibchen in symbiontenfreie und die daran anschließende Ablage von Kokons, scheint diese Auffassung jedenfalls zu bekräftigen. Es ist wenig wahrscheinlich, daß die Symbionten der Kleiderlaus nur dazu da sein sollten, bereits in der Nahrung vorhandene Substanzen zu vermehren; nach G. FRAENKEL (1952) kommen auch im Blut die wichtigsten Vitamine, allerdings in einer 5—10mal geringeren Konzentration als in Milch vor. — Bei den Blattiden dürften infolge der omnivoren Ernährung die Verhältnisse wohl noch günstiger als bei den Kleiderläusen liegen.

KAUDEWITZ (1953) vermutet neben den nachgewiesenen Wachstoffsstoffen auch eine Ablagerung von Metamorphosehormonen im Fettkörper von *Tenebrio molitor*. Unter diesen Gesichtspunkten betrachtet gewinnen auch die Versuche von IWANOFF und MESTSCHERSKAJA (1935) an Bedeutung; diesen Autoren war der Nachweis eines Stoffes gelungen, der bei *Blattella germanica* die unreifen Ovarien der Präimago in den reifen Zustand verwandelt. Vergleicht man die Befunde von JOLY (1954), der nach Exstirpation der Corpora cardiaca eine Atrophie der *C. allata* und eine Rückbildung der Ovarien beobachtete, mit diesen Untersuchungen, so erscheint die Möglichkeit einer Beziehung zwischen dem innersekretorischen System und den Symbionten als durchaus gegeben.

Sowohl in den hier zitierten Fällen wie auch bei meinen eigenen Versuchen verlief die Oogenese der jüngsten Stadien normal. Die Feststellung von GLASER (1946), der in einzelnen Fällen ein völliges Fehlen der Ovarien — und das bei einigen Tieren schon 24 Std nach Injektion von nur 4000 E Penicillin beobachtet hatte — beruht vermutlich auf einer unzureichenden Versuchsanordnung. Entweder war bei diesen Tieren die Metamorphose erst kurz vorher erfolgt, so daß die Ovarien noch unentwickelt waren und der Beobachtung entgangen sind (GLASER gibt leider die Untersuchungstechnik nicht an), oder irgendwelche toxischen Beimengungen des Penicillins mußten diese Auflösung verursacht haben. — Die eigenen Versuche mit *Carausius morosus* ergaben keinen Einfluß des Penicillins auf die Ovarien dieser Insekten.

Bei den Untersuchungen mit geschlechtsreifen weiblichen Schaben — die über 14 Tage eine größere Dosis Penicillin injiziert erhielten — und die während dieser Zeit noch Kokons ablegten, aus denen später symbiontenfreie Larven schlüpften, ergab sich, daß wahrscheinlich irgendwelche „Wirkstoffe“ von den Symbionten geliefert werden, wie dies schon von ASCHNER und RIES (1932) für die Kleiderlaus vermutet wurde. Außerdem dürfte ein gewisser Vorrat dieser Stoffe — wahrscheinlich im Fettkörper — gespeichert werden. Die in dieser Zeit noch nachweisbaren gramnegativen symbiontischen Bakterien sind wahrscheinlich infolge ihrer physiologischen Umstimmung kaum in der Lage gewesen, derartige Substanzen zu produzieren, da die Ablage von Kokons trotz ihrer Anwesenheit nur in den ersten Tagen erfolgte. — Daraus geht gleichzeitig hervor, daß die Symbionten für die Embryonalentwicklung nicht notwendig sind, sondern umgekehrt, wie schon von BLOCHMANN (1888) angedeutet, eine normale Entwicklung des Eies Voraussetzung für die Besiedlung durch die Bakterien ist.

d) **Histologische Beobachtungen.** Die Bakteriocyten von Versuchstieren, deren Symbionten einem langsamen Abbau unterlagen, traten auf Schnittpreparaten sowohl durch den gut sichtbaren, großen Kern

als auch durch den darum gelagerten „Bakterienschutz“ hervor. Wodurch diese Anordnung der restlichen Bakterien verursacht wird, ist nicht zu sagen, möglicherweise stellt der Zellkern ein Zentrum dar, das die Vermehrung der Symbionten reguliert, so daß die symbiontischen Bakterien infolge dieser „Stimulierung“ längere Zeit einer Abtötung entgehen. — Nach einer Hypothese von FINK (1952) wird jedoch die Anzahl der Symbionten dadurch reguliert, daß das Symbiontenplasma selbst ein Stoffwechselprodukt abscheidet, das jeweils einen Zerfall der Mutterzelle bedingt.

Obwohl in völlig geleerten Bakteriocyten häufig degenerierende Kerne gefunden wurden, zeigten die Larven, die ihre Embryonalentwicklung ohne Symbionten durchlaufen hatten, verschiedene klar erkennliche Bakteriocyten. BUCHNER (1912) sprach in diesem Fall von obligatorischen Mycetocyten.

Bei symbiontenfreien *Oryzaephilus* waren nach KOCH (1937) die Mycetome nach 25 Generationen noch in genau derselben Weise wie bei symbiontenführenden angelegt. — Ähnlich verhält sich die symbiontenfreie ägyptische Lokalrasse von *Calandra granaria* (MANSOUR 1934, 1935), die einer Vermutung KOCHS zufolge ihren Symbiontenbestand durch die dort herrschenden höheren Temperaturen eingebüßt hat. Nach H. SCHNEIDER (1954) ist es durch Erhöhung der Temperatur tatsächlich möglich, die Symbionten von *C. granaria* und *C. oryzae* abzubauen, die leeren Mycetome waren dabei denen der ägyptischen Lokalrasse vergleichbar.

e) **Symbiontenbestand und Harnsäurestoffwechsel.** Nach den Untersuchungen von KELLER (1950), dem die Kultur der Blattidensymbionten auf einem harnsäurehaltigen Nährboden gelang, und der wiederholt von BUCHNER (1912, 1953) und KOCH (1952) geäußerten Auffassung, daß die Symbionten im Dienste der Exkretverarbeitung stünden, war zu erwarten, daß nach Entfernung der symbiontischen Bakterien der Harnsäuregehalt des Fettkörpers ansteigen würde. — Eine analytische Bestimmung der Harnsäure machte diese Annahme sehr wahrscheinlich, wenn es sich auch dabei nur um Vorversuche gehandelt hat.

Bei den Blattiden verleitet die benachbarte Lagerung der Harnsäurekonkremente zu den Bakteriocyten geradezu zu der Annahme eventueller Beziehungen zwischen Symbionten und Exkreten (BUCHNER 1912, 1953); zudem werden ähnliche Verhältnisse bei vielen anderen Insekten auch angetroffen.

Bereits 1924 konnte SCHWARTZ bei Kulturen der *Lecanium*-Symbionten einen Abbau von Harnsäure und anderen Purinderivaten nachweisen.

Ähnlich verhielt es sich bei den Versuchen von L. SCHNEIDER (mitgeteilt bei KOCH und Mitarbeitern 1951), hier waren die Symbionten

einer heteropteren Wanze (*Mesocerus marginatus*) ebenfalls in der Lage, Harnsäurekristalle unter Bildung von NH_3 und CO_2 anzugreifen. KELLER (1950) konnte dagegen eine Verarbeitung der Harnsäure durch die gezüchteten Blattidensymbionten analytisch nicht verfolgen. Wieder anders lagen die Verhältnisse bei *Pseudococcus citri* (FINK 1952); diese Symbionten vermochten nur Harnstoff abzubauen.

TÓTH (1951) hält die Symbionten verschiedener Aphiden und Homopteren für „stickstoffaktiv“; die Mikroorganismen sollen danach fähig sein, einerseits N_2 aus der Atmosphäre, andererseits auch Harnstoff und Harnsäure zu verarbeiten. SMITH (1948), der sich unter Verwendung von N^{15} ebenfalls mit diesem Problem beschäftigte, lehnte eine Bindung von N_2 aus der Luft ab. Infolge der hochgradigen Reduktion der MALPIGHISCHEN Gefäße bei Cocciden und Blattläusen wird die Aufarbeitung der Exkrete durch Symbionten allerdings wahrscheinlich (ŠULC 1910 und BUCHNER 1930).

In diesem Zusammenhang verdienen auch die Versuche von BODENSTEIN (1953) Beachtung, der nach Exstirpation der Corpora allata + cardiaca bei *Periplaneta americana* ein Verschwinden der Urate beobachtete und die C. cardiaca dafür verantwortlich machen konnte. — Über die Wirkungsweise der C. cardiaca herrscht allerdings bisher noch keine restlose Klarheit (PFLUGFELDER 1952). Eine Beziehung zum Eiweißstoffwechsel erscheint nicht ausgeschlossen (BODENSTEIN 1953). Vielleicht sind diese Probleme eng mit den Fragen der Wirkungsweise der Symbionten verknüpft. JOLY (1945) stellte nach Wegnahme der C. cardiaca bei *Dytiscus* zunächst eine Atrophie der C. allata und daran anschließend eine Reduktion der Ovarien fest. Es trat also am Ende seiner Versuche derselbe Effekt auf wie bei *Periplaneta orientalis* nach Entfernung der Symbionten. — Andererseits vermögen die Symbionten eine stetige Zunahme der Urate bei fortschreitendem Alter der Tiere nicht zu verhindern (PHILIPTSCHENKO 1907, MELAMPY und MEYNARD 1937).

Sollte die Ansicht von WEBB (1950) allgemeine Gültigkeit haben, so wären die normalerweise grampositiven Bakterien auf die Assimilation von Aminosäuren angewiesen, ohne die Exkrete als N-Quelle verwerten zu können. Die Fähigkeit einer Uricolyse dürfte charakteristisch für viele Insekten sein, wobei das Ferment allerdings außer in den MALPIGHISCHEN Gefäßen auch im Fettkörper lokalisiert sein kann (LEIFERT 1953, RAZET 1953). — Die durch die Symbionten bewirkte „Entgiftung“ des Wirtskörpers wie sie von KOCH (1952) und BUCHNER (1953) angenommen wurde, wirkt sich aber anscheinend nicht lebensverlängernd aus, da ein vorzeitiger Tod der symbiontenfreien Tiere nicht zu beobachten war.

Zusammenfassung

1. Durch Injektion und Verfütterung verschiedener Antibiotica (Penicillin, Aureomycin, Terramycin) konnten die intrazellulären Symbionten von *Periplaneta orientalis* entfernt werden, während sich bei Anwendung von Chloromycetin und Streptomycin bei einem Teil der Tiere resistente Bakterienpopulationen herausbildeten.

2. Aerosporin zeigte keinerlei Wirkung auf die symbiontischen Bakterien.

3. Bei der Untersuchung der Kernverhältnisse der Symbionten traten stets 2 in der Querachse angeordnete Gebilde auf, die in dieser Weise bisher in der Literatur noch nicht beschrieben worden sind. Vermutlich bestehen diese Körper wenigstens zu einem Teil aus Desoxyribonukleinsäure. Ein Zusammenhang zwischen diesen runden bis ovalen Strukturen und der Bildung der Querwand scheint wahrscheinlich.

4. Unter dem Einfluß der Antibiotica zeigten die symbiontischen Bakterien morphologische und färberische Veränderungen, die sich bei allen wirksamen Antibiotica in einem Wechsel der Gramreaktion von grampositiv nach gramnegativ äußerten. Daneben war eine teilweise beträchtliche Verlängerung der Zellen zu beobachten. Bei geringen Chloromycetinkonzentrationen kam es außerdem zu „Blähungen“ an den Bakterien, die als „Endkeulen“ und „Kniebildungen“ auftraten.

5. Tiere, die resistente Bakterienpopulationen besaßen, waren in der Lage, normale Kokons zur Ablage zu bringen. Die daraus schlüpfenden Larven zeigten nur mangelhaft infizierte Bakteriocyten.

6. Die symbiontischen Bakterien sind für die Embryonalentwicklung nicht notwendig.

7. Symbiontenverlust verursachte bei den Schaben eine charakteristische Farbänderung.

8. Tiere, die keine Symbionten mehr besaßen, waren nicht in der Lage, reife Eier zur Ausbildung zu bringen, die Oocyten zeigten auf einem bestimmten Entwicklungsstadium jeweils degenerative Prozesse.

9. Durch Zufütterung von Vitaminen und Hefen ließen sich diese Mangelercheinungen nicht beheben.

10. Die Injektion eines Fettkörperemulgates normaler reifer Weibchen in symbiontenfreie, ermöglichte es diesen Tieren wieder, Kokons zur Ablage zu bringen. Eine Entwicklung von Larven war dabei allerdings nicht zu erzielen.

11. Die Exkretamide (Harnsäure) scheinen nach Verlust der Symbionten eine Vermehrung zu erfahren.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. O. PFLUGFELDER, möchte ich für die Überlassung des Themas sowie für das große Interesse und die wertvollen Ratschläge meinen herzlichsten Dank sagen. — Frau Prof. Dr. Dr. A. NIETHAMMER bin ich ebenfalls für viele Hinweise auf bakteriologischem Gebiet zu Dank verpflichtet.

Literatur

Die in der Arbeit erwähnten und hier nicht aufgeführten Autoren sind, sofern es sich um Symbioseprobleme handelt, bei BUCHNER (1953), der Rest bei BRINGMANN (1952) nachzulesen.

ABRAHAM, E. P.: Siehe H. W. FLOREY, S. 1474. — BELLAMY, W. D., and J. W. KLIMEK: Some properties of penicillinresistant staphylococci. *J. Bacter.* **55**, 153—160 (1948). — BERGERSEN, F. J.: Cytological changes induced in *Bacterium coli* by Chloramphenicol. *J. Gen. Microbiol.* **9**, 353—356 (1953). — BERGOLD, G.: Eine Mikroinjektionsspritze und Mikrobürette bis zu 0,1 mm³. *Biol. Zbl.* **61**, 158—162 (1941). — BIELIG, H. J., G. A. KAUSCHE u. H. HAARDICK: Über den Zusammenhang von TTC-Reduktionsorten und sogenannten Nucleoiden bei Bakterien. *Naturwiss.* **39**, 354 (1952). — BISSET, K. A.: The evidence for mitotic spindles in bacteria. *Science (Lancaster, Pa.)* **116**, 154—155 (1952). — BLOCH, H., D. WIDELOCK and L. R. PEIZER: Susceptibility to isoniazid and pathogenicity of tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tbc.* **68**, 734—738 (1953). — BLOCHMANN, F.: Über die Richtungskörper bei den Eiern der Insekten. *Morph. Jb.* **12** (1887). — BODENSTEIN, D.: Studies on the humoral mechanisms in growth and metamorphosis of the cockroach *Periplaneta americana*. III. Humoral effects on metabolism. *J. of Exper. Zool.* **124**, 105—115 (1953). — BOWERS, R. E.: The vitamin requirements of the cockroach, *Blattella germanica*, L. Thesis submitted to the faculty of the Graduate School of Cornell University. Ithaca, N. Y. 1940. — BOWERS, R. E., and C. M. McCAY: Insect life without vitamin A. *Science (Lancaster, Pa.)* **92**, 291 (1940). — BREDERECK, H.: Purin- und Pyrimidinverbindungen. In *Physiologische Chemie* von B. FLASCHENTRÄGER, Bd. 1, S. 796—845, Die Stoffe. Berlin: Springer 1951. — BRINGMANN, G.: Die Organisation der Kernäquivalente der Spaltpflanzen unter Berücksichtigung elektronenoptischer Befunde. *Zbl. Bakter. II* **107**, 40—70 (1952). — BUCHNER, P.: Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen, S. 771. Basel u. Stuttgart: Birkhäuser 1953. — CHAPMAN, G. B., and J. HILLIER: Electron microscopy of ultrathin sections of bacteria. I. Cellular division in *Bacillus cereus*. *J. Bacter.* **66**, 362—373 (1953). — DUFRENOY, J., and R. PRATT: Cytochemical mechanisms of penicillin action. III. Effect on reaction to the gram-stain in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacter.* **54**, 283—289 (1947). — FEULGEN, R.: Von der Nuklealfärbung zum Plasmalogen. *Schr. Univ. Gießen* 1939. — FLEISCHHAUER, J.: Über die Einwirkung von Antibiotica auf gewisse apathogene Bakterien, insbesondere echte Milchsäurebildner. Diss. T. H. Stuttgart 1953. — FLOREY, H. W.: „Antibiotics“. A survey of penicillin, streptomycin, and other antimicrobial substances from fungi, actinomycetes, bacteria and plants by H. W. FLOREY, E. CHAIN, N. G. HEATLEY, M. A. JENNINGS, A. G. SANDERS, E. P. ABRAHAM, M. E. FLOREY. Bd. I u. II, S. 1774. London, New York u. Toronto: Oxford Univ. Press 1949. — FRAENKEL, G.: Diskussionsbemerkung zu V. B. WIGGLESWORTH 1952. — Studies on the distribution of vitamin BT (Carnitine), *Biol. Bull.* **104**, 359—371 (1953). Weitere Veröffentlichungen siehe BUCHNER 1953. — FRÖBRICH, G.: Der *Tribolium*-Imago-Faktor (T.I.F.) durch Carnitin ersetzbar, *Naturwiss.* **40**, 556 (1953). Alle weiteren Arbeiten siehe BUCHNER 1953. — GARDNER, A. D.: Morphological effects

of penicillin on bacteria. *Nature* (Lond.) **146**, 837—838 (1940). — GOETSCH, W.: Entdeckung und Bedeutung des Wirkstoffes T. *Rev. suisse Zool.* **56**, 551—564 (1949). — GROB, C. A., T. REICHSTEIN u. H. ROSENTHAL: Der Vitaminbedarf des amerikanischen Reismehlkäfers *Tribolium confusum* Duval. *Experientia* (Basel) **1**, 275—276 (1945). — HABS, H.: Bakteriologisches Taschenbuch, 35. Aufl., S. 215. Leipzig: Johann Ambrosius Barth 1951. — HACKMAN, R. H.: Chemistry of insect cuticle 3. Hardening and darkening of the cuticle. *Biochemic. J.* **54**, 371—377 (1953). — HAHN, F. E.: Über Kernaquivalente und Reduktionsorte in Bakterien. *Naturwiss.* **39**, 527—528 (1952). — HERRMANN, W., u. F. KUHLMANN: (Kein Titel.) *Beitr. Klin. Tbk.* **111**, 83 (1954). — HILCHEY, J. D.: Studies on the qualitative requirements of *Blattella germanica* (L) for amino acids under aseptic conditions, *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **17**, 203—219 (1953). — HOLZER, W.: Über die Art des Penicillineffektes. *Wien. med. Wschr.* **1947**, 109—111. — IWANOFF, P. P., u. K. A. MESTSCHERSKAJA: Die physiologischen Besonderheiten der geschlechtlich unreifen Insektenovarien und die zyklischen Veränderungen ihrer Besonderheiten. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* **55**, 281—348 (1935). — JOLY, P.: Zit. nach PFLUGFELDER 1952. — KADEWITZ, H.: Die Wuchsstoffverteilung im larvalen Fettkörper von *Tenebrio molitor*. *Z. vergl. Physiol.* **35**, 380—415 (1953). — KELLENBERGER, E., u. L. HUBER: Contribution à l'étude des équivalents des mitochondries dans les bactéries. *Experientia* (Basel) **9**, 289—291 (1953). — KETCHEL, M. M., and C. M. WILLIAMS: Isolation of the intracellular symbiont of the roach. *Anat. Rec.* **117**, 650—651 (1953). — KLIMEK, J. W., C. J. CAVALLITO and J. H. BAILEY: Induced resistance of *staphylococcus aureus* to various antibiotics. *J. Bacter.* **55**, 139—145 (1948). — KOCH, A.: (1936) Unveröffentlicht. Siehe KOCH 1950. — LEIFERT, H.: Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel bei Eiern, Raupen und Puppen von *Antheraea pernyi*. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* **55**, 131—170 (1935). — MALEK, S. R. A.: A lipoprotein precursor of sclerotin in the cockroach cuticle. *Nature* (Lond.) **170**, 850—851 (1952). — MCCAY, C. M.: The nutritional requirements of *Blattella germanica*. *Physiologic. Zool.* **11**, 89—103 (1938). — MELAMPY, R. M., and L. A. MAYNARD: Nutrition studies with the cockroach (*Blattella germanica*). *Physiologic. Zool.* **10**, 36—44 (1937). — MIGULA, W.: Über den Zellinhalt von *Bacillus oxalaticus* ZOFF. *Arb. Bact. Inst. T. H. Karlsruhe* **1**, 135—148 (1894). — System der Bakterien, Bd. 1, Allgem. Teil, S. 368. Jena: Gustav Fischer 1897. — MURRAY, R. G. E.: The problem of fixation for studies of bacterial nuclei, 6. Congresso Int. di Microbiologia Roma 1953. — MURTHY, M. R. V., and H. SREENIVASAYA: Effect of antibiotics on the growth of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Nature* (Lond.) **172**, 684—685 (1953). — NEUGEBAUER, W.: Nach noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen. — PEIZER, L. R., D. WIDELock and S. KLEIN: Virulence in guinea pigs of isoniazid resistant cultures, isolated from clinical specimens. *Amer. Rev. Tbc.* **68**, 290—291 (1953). — PENSO, G. u. a.: Studies on the mechanism of action of streptomycin. *Rendic. Ist. Sup. di Sanità, Roma* **10**, 633—638 (1947). — PFLUGFELDER, O.: Entwicklungsphysiologie der Insekten, S. 332. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1952. — PIEKARSKI, G.: Die Zellkernaquivalente der Bakterien, 2. Kolloquium der Dtsch. Ges. für physiol. Chem. am 6./7. April 1951, Mosbach (Baden), S. 83—101. — PREUNER, R., u. J. v. PRITZWITZ und GAFFRON: Über den Nachweis von Reduktionsorten in Bazillen und Bakterien und ihren Zusammenhang mit den sog. Nukleoiden. *Naturwiss.* **39**, 128—131 (1952). — PUCHTA, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* BURM. *Naturwiss.* **41**, 71—72 (1954). — RAPER, H. S.: Chromoxydasen. In: Die Methoden der Fermentforschung, S. 2476—2488. Herausgeg. von E. BAMANN u. K. MYRBÄCK, 4 Bde. Leipzig 1941. — RAZET, P.: Recherches sur la localisation des enzymes uricolytiques chez les insectes. *C. R. Acad. Sci.*

Paris 236, 1304—1306 (1953). — REDECKER, R.: Über die Wirkung des Penicillins auf Diphtheriebazillen. Diss. Göttingen 1946, U 45/48 4155. — ROBINOW, C. F.: Addendum in: The bacterial cell by René J. Dubos, S. 377. Cambridge Mass.: Harvard Univ. Press 1946. — SCHNEIDER, H.: Künstlich symbiontenfrei gemachte Kornkäfer (*Calandra granaria* LIN.). Naturwiss. 41, 147—148 (1954). — SCHNEIDER, L.: Zit. nach A. KOCH u. Mitarb. 1951. — SHANAHAN, A. J., and F. W. TANNER: Further studies on the morphology of *Escherichia coli* exposed to penicillin. J. Bacter. 55, 537—544 (1948). — STEENKEN jr., W., and E. WOLINSKY: Virulence of tubercle bacilli recovered from patients treated with isoniazid. Amer. Rev. Tbc. 68, 548—556 (1953). — STEINBERG, B.: Les modifications de la structure interne de *E. coli* B. sous l'action d'antibiotiques. Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 15, 432—443 (1952). — THUNBERG, T.: Die Enzyme der elementaren Atmung. In: Physiologische Chemie von B. FLASCHENTRÄGER Bd. I, S. 1171—1245, Die Stoffe. Berlin: Springer 1951. — TULASNE, R.: Cytologie des proteus et ses modifications sous l'effect de la penicilline. C. r. Soc. Biol. Paris 143, 286—287 (1949). — TULASNE, R., and R. VENDRELY: Demonstration of bacterial nuclei with ribonuclease. Nature (Lond.) 160, 225—226 (1947b). — UMBREIT, W. W.: Mechanism of antibacterial action. Pharmacol. Rev. 5, 275—284 (1953). — WALLHÄUSSER, K. H.: Vitalfärbung von Bakterien. Wirkungsmechanismus der Antibiotica-Zellteilungsvorgänge (Vitalfärbung). Zbl. Bakter. I Orig. 158, 358—362 (1952). — Die Darstellung der Zellteilungsvorgänge und des Wirkungsmechanismus antibiotischer Stoffe an vital gefärbten Bakterien. Arzneimittel-Forsch. 4, 118—124 (1954). — WALTER, A. M., u. L. HELMEYER: Antibiotica-Fibel, S. 813. Stuttgart: Georg Thieme 1954. — WEBB, M.: Gram staining reaction for micro-organisms. Research (Lond.) 3, 113—120 (1950). — WIGGLESWORTH, V. B.: The epicuticle in an insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 134, 163—181 (1947). — The insect cuticle. Biol. Rev. 23, 408—451 (1948). — Symbiosis in blood-sucking insects. Tijdschr. Entomol. 95 (1952).

Dr. WERNER FRANK, Stuttgart-Hohenheim,
Zoologisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Tübingen

INDIVIDUALITÄT, LEBENSDAUER UND NATÜRLICHER TOD
DER ZOOIDE VON *STYLARIA LACUSTRIS* L.
(BLASTOCYTENSTUDIEN V)

Von

HANS-ADAM STOLTE

Mit 23 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Juni 1955)

Inhalt

	Seite
A. Einleitung	367
B. Biologische Bemerkungen zum Material	369
C. Befunde und Versuche	371
I. Lebensgeschichte der geschlechtlichen Zooide	371
II. Lebensgeschichte der ungeschlechtlichen Zooide	383
1. Methodisches	383
2. Lebensablauf der ungeschlechtlichen Zooide	385
III. Zur Histologie der Wachstumszone	391
IV. Regenerationsversuche an alternden Stylarien	400
D. Deutung der Befunde im Rahmen einer Darstellung des Lebensablaufes der Zooide	403
Zusammenfassung	411
Literatur	412

A. Einleitung

Eine der auffälligsten biologischen Erscheinungen bei den wasserbewohnenden Oligochäten ist die ungeschlechtliche Fortpflanzung durch Teilung und die Bildung langer Ketten von Zooiden. Damit geht meist eine unerschöpfliche Regenerationsfähigkeit parallel. Die Diskussion über das diesen Vorgängen zugrunde liegende Material hat eine große Anzahl von Arbeiten gezeitigt, ohne daß völlige Klarheit über die bei Fortpflanzung und Regeneration ablaufenden Wachstumsvorgänge erzielt worden wäre: Einige Autoren (RANDOLPH, KRECKER, HÄMMERLING) sehen in indifferenten Zellen (Neoblasten), die dem Mesoderm eingelagert sind, das Material für die im weitesten Sinne regenerativen Vorgänge, für Andere sind die Neoblasten nur zeitweilig aktivierte Zellen aller drei Keimblätter (MEEWIS), wieder Andere sehen den Neuaufbau der Segmente als Resultat der Zusammenarbeit der Neoblasten mit den durch Induktion embryonalisierten Körperzellen an, die insgesamt als Blastocyten (STOLTE) bezeichnet werden können. Die Beantwortung dieser Fragen wird vielfach durch das Material bestimmt, wobei die

Zellansammlungen, die bei solchen Aufbauprozessen häufig sind, den Überblick über diese Vorgänge und damit ihre Deutung ganz wesentlich erschweren.

Da alle diese Fragen kürzlich zusammenfassend erörtert wurden (STOLTE 1955), kann an dieser Stelle darauf verwiesen werden.

Eine besondere Anziehung übten offenbar die verwickelten Wachstumsvorgänge aus, die zur Kettenbildung führen, deren Zustandekommen aber oft nur schwer zu entwirren ist, wie das kürzlich für die Gattung *Aeolosoma* durch HERLANT-MEEWIS und für *Chaetogaster* durch MEEWIS geschehen ist. Auch über die zeitliche Folge der Generationen liegen schon einige Angaben vor (MAUPAS 1889, 1919; HÄMMERLING 1924 [2]).

Dieses dauernde Wachstum an mehreren Punkten der Tierkette und das dauernde Längenwachstum am Hinterende mußte suggestive Wirkungen ausüben, die sich zu der Vorstellung verdichteten, daß das aufbauende Zellmaterial, in den Neoblasten deutlich sichtbar, dauernd teilungsfähig und also „unsterblich“ sei, eine Ansicht, die besonders HÄMMERLING (1924 [1, 2], 1932) vertreten hat.

Bei dieser Einstellung wurde wohl übersehen, daß das Wachstum in der Tierkette auf Grund überdurchschnittlicher Ernährung erfolgt: Das Wachstum bleibt also nicht auf das Hinterende beschränkt, sondern setzt gleichzeitig an mehreren Punkten des Körpers ein, wodurch die Kette zustande kommt. Sinkt aber die Nahrungsmenge, so bleibt schließlich nur das Wachstum am Hinterende erhalten: Der Wurm bekommt dadurch einen individuellen Charakter und sein Schicksal hat eine andere biologische Bedeutung, die Interesse für uns gewinnt.

Dieselben Vorgänge der Individualisierung sind aber auch zu beobachten mit dem Übergang zum geschlechtlichen Zustande: auch hier erfolgt Abklingen der Wachstumsvorgänge. Gerade die Tatsache aber, daß geschlechtliche und ungeschlechtliche Zooide bei den Limikolen nur selten nebeneinander beobachtet werden, ja bei manchen Arten die ersteren überhaupt fehlen, mag zur Vernachlässigung des Einzelzoids beigetragen haben. Die verhältnismäßig spärlichen Wachstumsvorgänge am Hinterende solcher Tiere scheinen mir geeignet, die zellulären Vorgänge einer Prüfung zu unterziehen, wie dies früher bei den zellarmen Neubildungsvorgängen in der Teilungszone von *Dero limosa* LEIDY mit Vorteil von mir ausgenutzt werden konnte (STOLTE 1933 [1]).

In der freien Natur kommen neben Ketten immer Einzeltiere vor, wenn auch nicht gerade beim Übergang zur Geschlechtsperiode, weil diese nur aus einem Zeitabschnitt reichlicher Nahrungszufuhr hervorgehen kann. So war zu vermuten, daß bei geeigneter Fütterung im Experiment ebenfalls ungeschlechtliche Zooide ähnlich wie die Geschlechtstiere in individueller Form mit beschränktem Längenwachstum

erhalten werden könnten. Dieses abklingende Wachstum würde an den im Hinterende existierenden undifferenzierten Zellen vielleicht Veränderungen sichtbar machen, die Rückschlüsse auf ihre Bedeutung für alle Neubildungsvorgänge im Limikolenorganismus zuließen.

Solche Hoffnungen bewogen mich, den individuellen Erscheinungen an ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Zooiden von *Stylaria lacustris* L., die mir in einem riesigen Material zur Verfügung stand, meine Aufmerksamkeit zu widmen. Schon vor Jahren hatte ich mich mit den Alterserscheinungen bei der Gattung *Nais* beschäftigt (STOLTE 1927), allerdings nur bei ungeschlechtlichen Zooiden. Daß diese Erscheinungen als Altersveränderungen anzusehen seien, hat später HÄMMERLING (1932) bezweifelt. Ich glaube, daß ich heute in der Lage bin, nicht nur weitere Beweise für echte Altersveränderungen vorlegen zu können, sondern auch eine Schilderung des natürlichen Todes bei ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Zooiden von *Stylaria lacustris*, ablesbar am Verhalten und an den histologischen Veränderungen, geben zu können.

B. Biologische Bemerkungen zum Material

Stylaria lacustris L. fand ich in großen Mengen im Schloßteich in Waldsee (Oberschwabau), und zwar im Bewuchs der Uferregion und insbesondere in den schwimmenden Büscheln von *Ceratophyllum*. Während der Dauer der beiden letzten Jahrzehnte wurde diese Form von mir ziemlich regelmäßig beobachtet.

Der Schloßteich von Waldsee ist ein außerordentlich arten- und individuenreicher Biotop. Er wird einerseits von einem Bach durchströmt, andererseits werden nährstoffreiche Abwässer, nach Regengüssen überreichlich, aus dem Ort ihm zugeführt. Hohe Bäume stehen an seinem Ufer und im Herbst fallen ihre Blätter in der Uferregion in den See. Auf dem Wasser tummeln sich Wildenten und Lachmöven.

Durch einige Messungen in den Herbstmonaten wurden folgende O_2 -Werte im Wasser nachgewiesen:

7. 9. 34. Lufttemperatur: 5—10° C (nach kalten Tagen warm). Seemitte: 16,9 mg O_2 /L. Seerand (mit *Lemna*): 12,45 mg O_2 /L.

3. 11. 34. Lufttemperatur: In der Nacht —5° C. Seerand: 9,9 mg O_2 /L. (Laubfall, *Ceratophyllum* fast verschwunden.)

Der Schloßteich hält nach allen Beobachtungen die Mitte zwischen Eutrophie und Oligotrophie, wobei der O_2 -Schwund normaler eutropher Teiche infolge der geringen Tiefe sich wenig auswirkt.

In diesem Teich waren die Stylarien seit September 1934, dem Beginn der Beobachtungen, immer massenhaft vertreten, bis September hatten die Würmer Teilungszonen, die allerdings nicht auf der Höhe der Entwicklung standen. Im November waren die Stylarien geschlechtsreif und auf der Höhe der Eiproduktion.

In den folgenden Jahren, insbesondere den Jahren 1953 und 1954, war durch regelmäßige Probenentnahme festzustellen: Im Frühjahr und Sommer ist *Stylaria* nur ungeschlechtlich in starker Vermehrung im Teich anzutreffen, der Höhepunkt der Vermehrung lag in Juni und Juli: Während die Würmer gewöhnlich nur aus den *Ceratophyllum*-büscheln in großer Zahl auszuschütteln waren, konnten sie während der Massenentwicklung im Sommer auch aus dem freien Wasser geschöpft werden.

Am 1. 10. 53 war Beginn der Geschlechtlichkeit festzustellen (vielfach noch Teilungszonen an Tieren mit deutlicher Entwicklung der Keimdrüsen, kein Clitellum).

Am 31. 10. 53 sind die Stylarien geschlechtsreif mit leeren Samen- und Eisäcken, das Clitellum noch gut entwickelt, Darm leer, Teilungszonen fehlen.

16. 6. 54: *Ceratophyllum* tritt auf, Stylarien sehr zahlreich.

14. 7. 54: Massenentwicklung der Stylarien, vorherrschend dreifache Ketten.

30. 9. 54: Lufttemperatur $+2^{\circ}\text{C}$, kalt, Schnee. Durch hohen Wasserstand *Ceratophyllum* überwiegend fortgeschwemmt oder durch Detritus stark verschmutzt. Stylarien sehr hinfällig (O_2 -Mangel?) Geschlechtsstiere in *Ceratophyllum* versteckt, Population überwiegend geschlechtlich, kleinere Tiere mit oder ohne Teilungszonen.

Man kann also sagen, daß die Geschlechtsperiode von *Stylaria lacustris* im Schloßteich von Waldsee in dem Zeitraum September—November lag. Daß dies keine zeitlich festgelegte Sexualperiode bedeutet, habe ich schon früher nachgewiesen (STOLTE 1921) und ist von ECKERT (1927) bestätigt worden. Es muß überhaupt betont werden, daß die Lebenserscheinungen bei *Stylaria* in ganz ausgesprochenem Maße von den Faktoren des Biotops abhängig sind. Es war also unbedingt notwendig, neben den Versuchen im Laboratorium die dauernde Kontrolle im natürlichen Biotop einhergehen zu lassen. Andererseits konnten die Bedingungen des Laboratoriumsversuchs den Bedingungen in der freien Natur entsprechend gestaltet werden. Schädigungen an den Versuchstieren mußten ihre Parallele im natürlichen Biotop haben, um nicht als pathologisch abgetan zu werden.

Für die Haltung der geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Zooide von *Stylaria* im Laboratorium hatte sich im Laufe der Jahre folgende Methode entwickeln lassen: Die Würmer wurden in Boveri-Schalen gehalten, die Monate vor Beginn der Zucht mit Detritus und Grünalgen (*Chlorella* u. a.) beschickt wurden. Mit der Zeit bildete sich an den schrägen Wänden der Schalen ein einheitlicher Algenbezug, der für den notwendigen Sauerstoffgehalt des Zuchtwassers sorgte, denn der Sauerstoffbedarf, vor allem der Geschlechtsstiere, ist sehr bedeutend. Der Detritus, mit dem die Stylarien gefüttert wurden, und deren Fäkalien dienten den Algen als Stickstoffquelle. Aber trotzdem mußten in Mehrfachkulturen täglich die Fäces abpipettiert werden: dann erst war täglicher Wasserwechsel unnötig.

Mit einer ähnlichen Fütterungsmethode hatte ECKERT (1927) gute Erfolge gehabt, allerdings nur für kürzere Zuchtdauer. Dagegen eignet sich die Fütterung mit Salat, die kürzlich auch HYMAN (1941) empfohlen hat, für *Stylaria* nicht, da das O_2 -Bedürfnis nicht befriedigt wird. Leben diese Würmer doch durchweg in den obersten durchlichteten Wasserschichten, unmittelbar an den *Ceratophyllum*-Blättern. Oft konnte ich beobachten, daß die Blättchen dieser Pflanze, in die Zuchtschalen gebracht, eine geradezu magische Anziehungskraft auf die Würmer ausübten: Die Würmer schwammen sehr schnell darauf zu und verschwanden zwischen den Blättern. Trotzdem der an den *Ceratophyllum*-Blättchen haftende Detritus die eigentliche Nahrung der Würmer war, war die Zugabe solcher Blätter in die Zuchtschalen nicht ratsam, da die Würmer an den rauen Oberflächen der Pflanze sehr fest hafteten, so daß sie nur unter Verletzung von den Blättchen freizubekommen waren oder auch nicht wiederzufinden waren.

Daß die Stylarien in den so präparierten Boveri-Schalen gut gediehen, zeigte ihre lebhafteste Freßtätigkeit und die Neigung, geschlechtsreif zu werden, was wohl auf den hohen O_3 -Gehalt in den Schalen zurückzuführen ist.

Auch im natürlichen Biotop waren die Würmer gegen Verschmutzung sehr empfindlich: Sie zogen sich dann in die innersten Winkel der *Ceratophyllum*-Blättchen zurück und kamen erst allmählich wieder hervor, wenn sie in sauberem Wasser gehalten und dann ausgeschüttelt wurden.

Das Auffinden von alternierenden Tieren war naturgemäß im Schloßteich recht schwierig, über die Lebensdauer genaue Angaben zu machen nicht möglich, da die ganz alten Tiere so geschwächt sind, daß sie beim Herausfischen wohl meist zu Boden sinken. Auch sind im Schloßteich die Stylarien das bevorzugte Futter der Jugendstadien des Hechtes, die dort so zahlreich sind, daß der Hecht zentnerweise gefischt werden kann.

Die vorliegenden Untersuchungen haben sich über einen Zeitraum von 2 Jahrzehnten hingezogen, da in den Kriegsjahren anderweitige Inanspruchnahme die Arbeit verzögerte und die ersten Nachkriegsjahre wissenschaftlicher Arbeit überhaupt abhold waren.

C. Befunde und Versuche

I. Lebensgeschichte der geschlechtlichen Zooide

Es liegen bisher keinerlei Beobachtungen vor, ob eine aus dem Ei geschlüpfte *Stylaria* im ungeschlechtlichen oder geschlechtlichen Zustande ist. DAWYDOFF (1941) gibt nur an, daß die Stylarien beim Verlassen des Eies noch keine Afteröffnung besitzen. Da die Sexualität aber nur auf der Grundlage einer überdurchschnittlichen Ernährung eintritt, ist anzunehmen, daß der ausgeschlüpfte Wurm zunächst sich ungeschlechtlich vermehren wird. Innerhalb einer Population von *Stylaria* sind sicher die meisten Mitglieder ungeschlechtlicher Herkunft.

Wenn nun aus einer ungeschlechtlichen Kette Geschlechtstiere hervorgehen, so muß schon in der Kette an den hinteren Zoiden die erste Anlage der Keimzellen erfolgen, da Hoden und Ovarien im 5. bzw. 6. Segment liegen, die Segmente I—V aber aus der hinteren Hälfte der Teilungszone entstehen. Mit der Anlage der Teilungszone wird also auch die Lage der Keimzellen festgelegt (STOLTE 1933 [2]). Die Gonaden sind in diesem letzten Stadium ungeschlechtlicher Fortpflanzung kleine kugelige, nur unter dem Mikroskop sichtbare Gebilde.

Löst sich nun das mit solchen frühen Gonadenanlagen ausgestattete Hinterzoid ab, so bedeutet das den Beginn der selbständigen Existenz eines Geschlechtstieres, wenn wir annehmen, daß im Vorderzoid noch keine Keimdrüsen entwickelt waren.

Innerhalb des geschlechtlichen Zustandes kann man 3 Stadien unterscheiden, die bis zur Vollreife durchlaufen werden. Im 1. Stadium ist der gefüllte Samensack sichtbar, der sich über einige Segmente nach hinten erstreckt. Das 2. Stadium ist charakterisiert durch das Auftreten von Eiballen im hintersten Teile des Eisackes, in den sich der Samensack hineingeschoben hat. Manchmal ist auch jetzt schon das Clitellum auf der Haut durch einen bläulichen Schimmer erkennbar. Das 3. Stadium der Vollreife ist erreicht, wenn das Clitellum wohl abgegrenzt über das 5. bis 7. oder 8. Segment sich erstreckt und die paarigen Spermatheken im vorderen Teile des 5. Segmentes, die sich mit ihren Ampullen in den Samensack schieben können, sichtbar werden. Falls an einem solchen reifen Geschlechtstier eine Teilungszone noch

vorkommen sollte, ist sie entweder im „reversiblen“ Zustande (ECKERT 1930) und wird in kurzer Zeit resorbiert, oder sie ist weiter fortgeschritten, also nach ECKERT im Refraktärstadium, dann erfolgt die Los-trennung des Hinterzoids.

Nunmehr ist das Zooid *im vollen Besitze seiner Individualität* und muß als *vollreifes Geschlechtstier* bezeichnet werden.



Abb. 1. *Stylaria lacustris* L. Vollreifes Geschlechtszooid mit verkürztem Rüssel, ausgebildetem Clitellum (Cl) und kurzer pygidialer Wachstumszone (p.W.). Photo

Aber auch in diesem Zustande bleibt das Wachstum am Hinterende zunächst noch erhalten, so daß solche Tiere schließlich die doppelte Zahl von Segmenten erreichen gegenüber ungeschlechtlichen Zooiden. Diese letzteren sind (nach DEHORNE 1916—1918) etwa 27 Segmente lang, d. h. sie enthalten 5 Kopfsegmente und 22 Rumpfsegmente, da der Bereich der Teilungszone bei *Stylaria* zwischen dem 12. und 22. Rumpfsegment liegt. Ein reifes Geschlechtszooid aber, wie es etwa in Abb. 1 wiedergegeben ist, besitzt 49 Segmente ($5 + 44$), also genau die doppelte Zahl der Rumpfsegmente. Die bei diesem Exemplar sichtbare Verjüngung des Hinterendes deutet darauf hin, daß die Wachstumsenergie des Zooids nachgelassen hat. Das Heranwachsen der Gonaden und die Füllung von Samen- und Eisack führen zu einer starken Dehnung des sie beherbergenden Vorderkörpers und zusammen mit der eben geschilderten Verdoppelung der Segmentzahl erscheinen die Würmer sehr stark

vergrößert. In der Population kommen daneben immer noch kleinere Exemplare vor, die sich meist als ungeschlechtliche Hungerformen erweisen.

Gemäß den Angaben der Autoren lösen sich die Gonaden der Naididen frühzeitig vom Orte ihrer Entstehung und die Entwicklungsstadien der Keimzellen werden in die Sackbildungen, die Ausstülpungen der Dissepimente darstellen, aufgenommen (MEHRA 1924; STOLTE 1934). In meinem Freilandmaterial fand ich aber ein besonders kräftiges Exemplar, das neben einem wohlgefüllten Samen- und Eisack noch je ein Paar Hoden und Ovarien an ihrem Ursprungsorte aufwies. Auch die Tatsache der schnellen Regeneration der Gonaden bei *Stylaria*, die JANDA (1927) schildert und die ich bestätigen konnte (s. unten), spricht für das Weiterbestehen der Gonadenanlagen bei besonders vitalen Individuen. Darauf wird später nochmals zurückzukommen sein.

Auf Grund dieser Tatsachen taucht nun die erste der hier zu behandelnden Fragen auf: *Ob nämlich ein Geschlechtszooide von Stylaria lacustris ein abgeschlossenes Längenwachstum besitzt oder ob diesem Wachstum keine Grenze gesetzt ist.*

Es muß vorausgeschickt werden, daß dabei an eine fixierte Segmentzahl nicht gedacht werden kann, sondern an einen Bereich, innerhalb dessen entsprechend den Ernährungsverhältnissen das Wachstum zum Stillstand kommt. Denn wie der Bereich der Anlage einer Teilungszone, so wird auch die Gesamtlänge weitgehend, wenn auch nicht ausschließlich, durch die zur Verfügung stehenden Nährstoffe bestimmt.

Tatsächlich konnte ich in meinem Material beobachten, daß nach Abgabe der Geschlechtsprodukte das Längenwachstum wieder auflebte, weil jetzt offenbar dem Organismus die Stoffe wieder zur Verfügung standen, die während der Geschlechtsreife für die Keimzellen verbraucht wurden. In dem so verlängerten Körper kann wohl mitunter eine neue Teilungszone angelegt werden, meistens werden aber dazu die Reserven nach Abschluß der Geschlechtsperiode nicht ausreichen, was auch in den stark verjüngten letzten Segmenten solcher verlängerter Würmer zum Ausdruck kommt. Wir werden aber weiter unten sehen, daß auch andere Gründe gegen einen solchen Wiedereintritt von Teilungsvorgängen sprechen.

Die Beantwortung der oben gestellten Frage wird aber vielleicht auch Licht werfen können auf das Schicksal der in die Wachstumszone eingelagerten totipotenten Zellen, und schließlich führt die Untersuchung dieser Frage von selbst zu Feststellungen über die Lebensdauer und den natürlichen Tod der geschlechtlichen Zooide.

Man war bisher der Meinung, daß bei den niederen wasserbewohnenden Oligochäten, bei *Aeolosoma* und den Naididen, das Wachstum am Hinterende ein dauerndes sei und die Verlängerung des Wurmkörpers

durch die Teilung wieder ausgeglichen würde. Auch für die geschlechtlichen Zooide nahm man an, daß nach dem Abklingen der Sexualität Teilungsvorgänge zusammen mit dem einsetzenden Wachstum am Hinterende wieder auftreten. Daher bezeichnete ich früher (STOLTE 1935) die vor der Teilungszone einer *Stylaria* liegenden Segmente als „Individualteil“ des Wurmes, der von Teilungsvorgängen unberührt bleibt.

In einer solchen Auffassung bestärkte mich eine Reihe von Beobachtungen an Freilandmaterial, die ich zur Zeit der geschlechtlichen Vollreife der Würmer machen konnte. Ich fand verschiedentlich besonders große Exemplare, die in der Mitte des Körpers, etwa kurz hinter dem

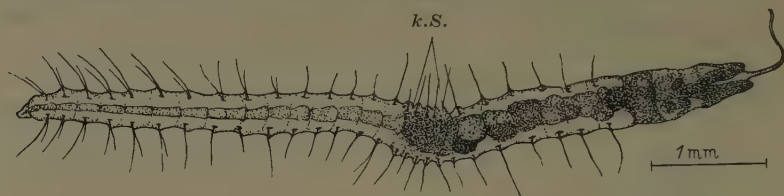


Abb. 2. Geschlechtszooide mit kontrahierten Segmenten (k.S.) hinter dem Geschlechtsapparat

Geschlechtsapparat, mehrere in der Längsrichtung zusammengezogene Segmente aufwiesen (Abb. 2). Diese Zone erstreckte sich gewöhnlich über 4 Segmente. Zunächst hielt ich diese Erscheinung für eine Form der Autotomie, durch die sich der Wurm vom gesamten Geschlechtsapparat befreit und wieder zur ungeschlechtlichen Fortpflanzung zurückkehrt.

Genauere Beobachtung und die Feststellung, daß der merkwürdige Vorgang nur bei besonders vitalen Geschlechtstieren und auch nie in meinen Kulturen auftrat, ließ eine ganz andere Erklärung als richtig erscheinen: Der Geschlechtsapparat dieser Stylarien war besonders stark mit Spermien und Eiballen gefüllt; er drückte damit den Darm sehr stark zusammen, ganz besonders an seinem Hinterende, wo große in der Reife weit fortgeschrittene Samenpakete und Eiballen liegen (10. bis 12. Segment). Der auf dem Darm liegende Druck führt nun dazu, daß hinter dem Geschlechtsapparat der Darm dort, wo er wieder seine volle Bewegungsfreiheit hat, einreißt, Darminhalt und Fermente in die Leibeshöhle gelangen und die Längsmuskeln der 4 Segmente darauf mit Kontraktion antworten. Dadurch werden Haut und Darm in Falten gelegt und hier entsteht eine für das Zerreißen des Wurmes bevorzugte Stelle. Abb. 3a zeigt die Kontraktionszone in einer Skizze nach dem Leben, Abb. 3b dasselbe im Längsschnitt und Abb. 4 ist der Beweis, daß nach der Zerreißung in manchen Fällen wenigstens das Hinterstück des Wurmes lebensfähig und vielleicht auch regenerationsfähig bleibt;

Abb. 5, ein Längsschnitt durch den Darm, läßt uns einen Durchbruch des Darmepithels in die Leibeshöhle erkennen.



Abb. 3a. Geschlechtszooide mit „Kontraktionszone“, nach dem Leben. *E.S.s.* Ei- und Samensack, *K.z.* Kontraktionszone



Abb. 3b. Dasselbe, Längsschnitt durch das Hinterende des Geschlechtsapparates und die Kontraktionszone, 60 $\times$. Flemmings Gemisch, Eisenhämatoxylin. *Sp* Spermatidenhaufen, *T.o.* Teilovarien, *k.L.* kontrahierte Längsmuskeln

Das Zerreißen des Darmes ereignet sich wohl dadurch, daß der Darm in der Geschlechtsregion festgeklemt ist und nun bei den Schwimmbewegungen des Wurmes, die übrigens infolge der Schwere der Keimdrüsen sehr schwerfällig sind, nicht nachgeben kann. Bei sehr alten Tieren findet man solche Kontraktionsstellen der Muskulatur an mehreren

Punkten des Wurmkörpers, woraus zu schließen ist, daß der Darm alter Würmer hinfalliger und für solche Vorfälle empfänglicher wird.

Das Ganze ist also keine physiologische Erscheinung, sondern durchaus pathologischer Natur, ein „Unglücksfall“, der bei Stylarien mit

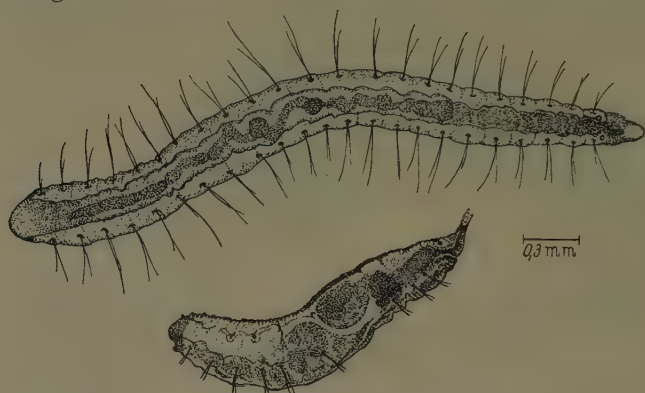


Abb. 4. Geschlechtszoid nach Trennung in der Kontraktionszone. An der Trennungsstelle Regenerationsvorgänge

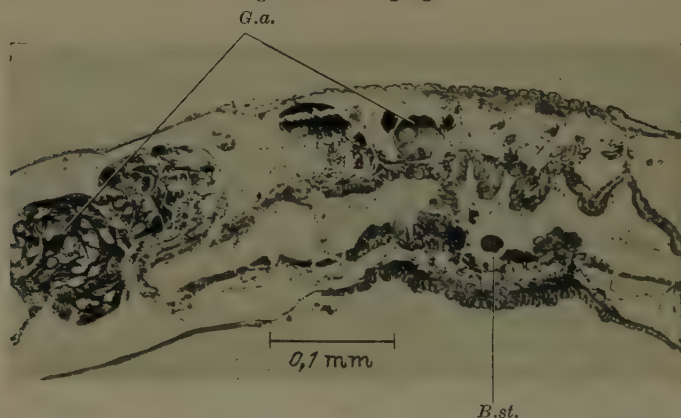


Abb. 5. Längsschnitt durch die Kontraktionszone mit Bruchstelle (*B.st.*) in der Darmwand. Photo. *G.a.* Geschlechtsapparat

besonders gut gefüllten Samen- und Eisäcken, also bei vitalen Exemplaren, vorkommt. In meinen Zuchten waren solche Muskelkontraktionen hinter dem Geschlechtsapparat nicht zu beobachten, weil hier die Keimzellproduktion den Bedingungen entsprechend gemäßigter verlief. Dieses Zerbrechen der Würmer ist aber deshalb nur selten von Regeneration gefolgt, weil das 17.—24. Segment, die zur Teilungszonenbildung befähigt wären, wahrscheinlich den dafür notwendigen Differenzierungsgrad überschritten haben (ECKERT 1927), worauf noch später zurückzukommen sein wird.

Sehen wir uns nun einmal die Geschlechtstiere auf ihre normale Länge hin an, so sei hier zunächst eine Gruppe von 9 geschlechtlichen Zoiden angeführt unter Ausschaltung der Individuen, deren Länge durch Verlust hinterer Segmente abnorm verkürzt worden ist: Die Stylarien hatten die Segmentzahlen (Kopf + Rumpfsegmente): 49, 51, 46, 36, 45, 47, 58, 57, 46. Die Längen liegen also in dem Bereich 36—58, im Mittel bei 48,3. Für unsere Betrachtung sind aber die höchsten Zahlen von Bedeutung, sie liegen zwischen 50 und 60 Segmenten. Stylarien mit mehr als 60 Segmenten sind mir nie zu Gesicht gekommen.

Da wir annehmen müssen, daß mit diesen Segmentzahlen der Bereich der „ausgewachsenen“ Geschlechtstiere bestimmt ist, sprechen wir damit diesen Zoiden eine Individualität zu, die im Rahmen dieses Längenbereiches immer wieder realisiert wird. Diese Auffassung findet nun weitere Stützen in den folgenden Beobachtungen:

In meinen Zuchten wurden häufig Würmer mit gefüllten oder ausgestülpten Spermatheken gefunden. Dies deutet darauf hin, daß der sexuelle Zustand der Stylarien in meinen Zuchten erreicht wurde oder nicht unterbrochen wurde, wenn Freilandmaterial in die neuen Bedingungen der Zuchtschalen übertragen wurde. Werden doch die Stylarien überhaupt schneller als alle anderen Naididen unter den angegebenen Zuchtbedingungen im Laboratorium geschlechtsreif. Nach einigen Wochen der Haltung fand ich denn auch immer abgelaichte Formen mit leerem Samensack und mit nur noch wenigen, oft unreifen, Eiern im Eisack.

Solche Formen weisen nun aber regelmäßig eine Reihe von Veränderungen auf, die als *Alterserscheinungen* anzusprechen ich mich für berechtigt halte, zumal die *gleichen Veränderungen am Ende der Geschlechtsperiode* im November im Schloßteich in Waldsee häufig zu beobachten waren. Ihrer Schilderung will ich mich nunmehr zuwenden:

Erstens war bei den Stylarien, die abgelaicht hatten, die Körperpartie, die der Geschlechtsapparat eingenommen hatte, also der Bereich des 5.—12. Segmentes, leer, durchsichtig, aber stark aufgebläht (Abb. 6). Im Gegensatz dazu waren die davorliegenden Segmente I—V, also der Kopfteil, stark geschrumpft, was in starker Fältelung dieses Vorderabschnitts sich ausdrückte. Diese Schrumpfung erstreckte sich auch auf Rüssel, der zu einem unscheinbaren Gebilde wird.

Die zweite auffällige Erscheinung bestand in weitgehender Veränderung des Chloragogens. Im Gegensatz zu den Angaben, die ich früher für einige *Nais*-Arten gemacht habe (STOLTE 1927), wo eine enorme Überfüllung des Darmchloragogens bei alternden Individuen zu beobachten war, tritt eine solche Anhäufung bei *Stylaria* nicht ein, wohl aber beobachtet man eine in den vordersten Rumpfsegmenten beginnende und nach hinten kontinuierlich weiterschreitende Schwärzung des

Chloragogens und gleichzeitig eine am gleichen Punkte einsetzende Ablösung einzelner schwarzer Körner, die in der Leibeshöhle liegen (Abb. 6). Bei den Geschlechtszoiden wird diese Schwärzung bei vollreifen Tieren oft erst hinter dem Geschlechtsapparat sichtbar, da während der Vollreife der Chloragogenbezug der Geschlechtssegmente gewisse Umwandlungen erfährt.

Zwei Gründe für das Auftreten solcher Chloragogenbrocken lassen sich anführen: Es mag die Schwimmbewegung des Vorderkörpers diese Region des Darmchloragogens besonders beanspruchen, wofür auch die Feststellung spricht, daß bei alten Zoiden das Chloragogen sich an den

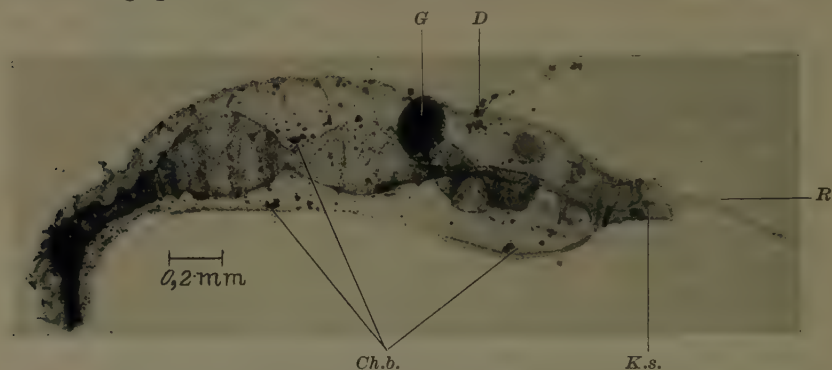


Abb. 6. Vorderkörper eines Geschlechtszoids aus dem Freiland, nach dem Abbläichen, total. Photo. *Ch.b.* Chloragogenbrocken in der Leibeshöhle, *D* äußerlich anhängender Detritusbrocken, *G* Reste des Geschlechtsapparates, *K.s.* Kopfsegmente, *R* Rüssel

Dissepimenten am längsten hält, was dem Wurm eine Art Zebrastrreifung verschafft. Die Dissepimente sind ja bei der segmentalen Kontraktion der Längsmuskulatur relative Ruhepunkte.

Den anderen Grund für die Ablösung am Vorderende der Rumpsegmente sehe ich in der Tatsache, daß diese auch gerade die ältesten Segmente des Zoids sind.

Eine solche Schwärzung, bei den ältesten Segmenten beginnend, hat auch v. HÄFFNER (1928) bei *Lumbriculus variegatus* beschrieben und als Altersmarke verwendet.

Mit diesen Chloragogenveränderungen parallel vollzieht sich eine Schrumpfung der Haut, die stellenweise aufricht und sich von der darunterliegenden Muskulatur abhebt (Abb. 7). So findet man nicht selten Würmer, die scheinbar nur noch durch den Darm zusammengehalten werden. Der Zusammenhalt der Segmente wird aber außerdem durch die Cölomsäcke garantiert. Der Darm macht auch bei sehr alten Tieren immer einen intakten Eindruck, das gleiche gilt für das Bauchmark, das in der ganzen Länge des Tieres eine durchaus normale Struktur besitzt.

Während sich diese Veränderungen am geschlechtlichen Zooid vollziehen, die Schwärzung des Chloragogens immer weiter nach hinten sich ausdehnt und auch die Schrumpfung der Haut immer auffälliger wird, kann am Hinterende des Zooids immer noch ein geringfügiges Wachstum stattfinden, bei dem sich aber immer nur verkleinerte Segmente bilden und einige Bauchborstenbündel angelegt werden. Wie klein eine Wachstumszone eines Geschlechtszooids bleibt, zeigt Abb. 8. Es ist die Wachstumszone des vollreifen Geschlechtszooids, das in Abb. 1 dargestellt ist.

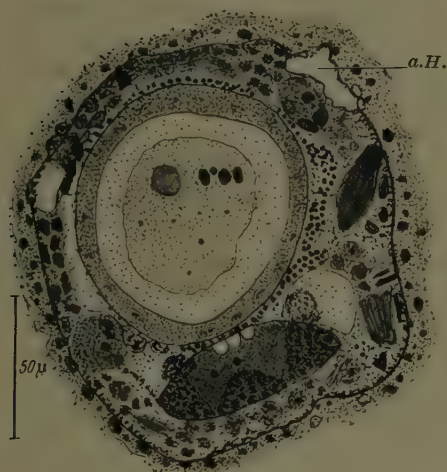


Abb. 7

Abb. 7. Querschnitt durch das Hinterende eines Geschlechtszooids aus dem Freiland mit geschrumpftem und teilweise abgelösten Hautepithel (*a.H.*). Leibeshöhle mit Zellen und Gewebeteilen erfüllt

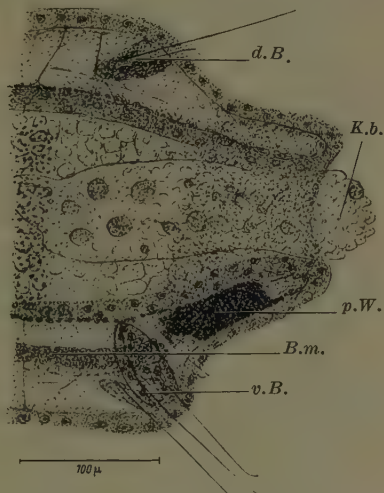


Abb. 8

Abb. 8. Optischer Längsschnitt durch das Pygidium von Abb. 1. *B.m.* Bauchmark, *d.B.* dorsales Borstenbündel, *K.b.* Kotballen, *p.W.* pygidiale Wachstumszone, *v.B.* ventrales Borstenbündel

Die Produktion von männlichen und weiblichen Keimzellen ebenso wie das Wachstum am Hinterende ist aber zudem von den zur Zeit herrschenden Ernährungsbedingungen abhängig: Menge der Keimzellen also, besonders Zahl und Größe der Eiballen im Eisack, sind ebenso sehr ein Zeichen guter Bedingungen, wie sie Ausdruck der Vitalität sind. Deshalb können ungünstige Bedingungen zu einem vorzeitigen Abschluß der Sexualperiode führen, ohne Erreichung der Altersphase, und es ist anzunehmen, daß ungeschlechtliche Vermehrung am Geschlechtszooid neu auftreten kann, wie ich es früher für *Nais* geschildert habe (STOLTE 1933 [2], Abb. 6a, b). Andererseits kann man auch bei ältesten Geschlechtstieren noch das Vorhandensein einiger Eiballen konstatieren, die manchmal auch zerfallen: Es läßt sich also nicht immer am Zustande des Geschlechtsapparates das Alter des Tieres ablesen.

Bei weiter fortgeschrittenen Alterszuständen der Geschlechtszooide tritt zu der Epidermisschrumpfung auch noch der Ausfall der dorsalen Haarborsten: Ich besitze das Präparat eines Wurmes, dem alle Rückenborsten fehlen; regionenweiser Verlust dieser Borsten ist eine häufige Erscheinung.

Mit zunehmendem Alter sammeln sich die Chloragogenbrocken und andere in der Leibeshöhle flottierende Partikel, z. B. auch kurze Muskelfasern, mehr und mehr in den hinteren Segmenten des Wurmes an und erfüllen dort die ganze Leibeshöhle. Aber dies alles bedeutet noch nicht das Ende des Zooids, da Nervensystem und Darmsystem äußerlich völlig intakt sind. Der Tod des Zooids tritt vielmehr ziemlich überraschend ein, aber so regelmäßig und mit so unzweideutigen Symptomen, daß es sich nicht um ein accidentelles Geschehen handeln kann. Es mag darum hier eine Schilderung der letzten Lebenstage einer *Stylaria* folgen, die sich ebenso auf geschlechtliche wie ungeschlechtliche Zooide bezieht, sie braucht also im nächsten Abschnitt nicht wiederholt zu werden.

Je nach der Nahrungsmenge und dem O₂-Gehalt in den Boveri-Schalen halten sich die Stylarien am Grunde oder an den schrägen mit Algen bewachsenen Wänden der Schalen auf. Aber während die Tiere am Grunde sich durch gegenseitiges Umschlingen stören und so nie zur Ruhe kommen, sitzen die Würmer an den Wänden der Schale völlig ruhig oder kriechen langsam umher und weiden die Algen und ihren Bewuchs ab. Diese normale Kriechbewegung mit Fressen und zeitweiligen Schwimmbewegungen bedarf einer genaueren Schilderung, um Veränderungen im Verhalten als Ausdruck des Absterbens klar zu erkennen.

Der Freßakt der Stylarien besteht in einer seitlichen Suchbewegung des vorderen Körperdrittels und des Rüssels und im Abweiden des Detritus vom Algenüberzug bzw. der Algen selbst. Währenddessen ist der Vorderkörper sehr unempfindlich für Berührungsreize. Wahrscheinlich werden dort nur chemische Reize aufgenommen: Selbst Berührung mit einer Nadel stört die Würmer keineswegs.

Mit den übrigen zwei Dritteln des Körpers haften die Würmer fest an der Unterlage, vor allem aber mit dem Hinterende, das dafür einige bedeutsame morphologische Besonderheiten aufzuweisen hat, auf die weiter unten genauer eingegangen werden soll. Dieses Hinterende ist nun gegen Berührung besonders empfindlich und der Wurm reagiert darauf mit eiligem Wegkriechen, auf stärkere Berührung mit Fortschwimmen.

Dieses Schwimmen von *Stylaria* ist sehr charakteristisch: Es besteht in einem Vorschießen des vorderen Körperdrittels und einem Nachziehen der übrigen zwei Drittel in der Form eines umgekehrten Fragezeichens, ist also eine viel unregelmäßigere Bewegung als die der meisten Naididen

mit ihrer regelmäßigen Schlängelbewegung, was wohl auf die Länge und Schwere der Ketten und der Geschlechtszooide zurückzuführen ist. Nach einigen Schwimmstößen kommen die Würmer wieder zu Ruhe, sinken auf die Glasflächen nieder und beginnen wieder mit dem Fressen. Die Schwimmbewegung der Geschlechtszooide ist bedeutend schwerfälliger als die der kleineren ungeschlechtlichen Würmer. Beim Fressen halten sich die Zooide völlig gestreckt und auch die Bewegungen des Vorderkörpers erfolgen in dieser Streckung. Wenn dabei mehrere Würmer nebeneinander liegen, konnte ich hin und wieder Begattungsversuche beobachten.

Wenige Tage vor dem Absterben der Würmer änderte sich dieses Verhalten tiefgreifend: Zunächst ließ die Haftung der Würmer an den Glaswänden nach, das Hinterende der Tiere war nicht mehr gestreckt, sondern leicht eingerollt. Wurden die Würmer am Hinterende berührt, so lösten sie sich von der Unterlage und machten Schwimmversuche, die wegen der geringen Amplitude nicht förderten, vielmehr ging die Schwimmbewegung meist in ein Zittern über, das den ganzen Körper erfaßte. Infolge des mangelhaften Schwimmens sanken die Tiere bald ab, am Boden krochen sie langsam mit eingebogenem Hinterende weiter. Offenbar versagte das Muskel-Nervensystem den Dienst, dazu kam herabgesetzte Reizempfindlichkeit.

Immer wieder war es derselbe Erscheinungskomplex: *Versagen der Schwimmbewegung und Nachlassen der Reizbarkeit, die bei allen alten Tieren in den letzten 24—48 Std zu beobachten waren.* Zwar ließen sich die Würmer mehrmals aufstöbern, aber immer sanken sie unter den gleichen Erscheinungen auf den Grund der Schale, wo sie oft schwer wiederzufinden waren, da sie bewegungslos dalagen. Daß man im natürlichen Biotop solche absterbenden Würmer nie findet, ist wohl daraus erklärlich.

Damit ist das Leben eines geschlechtlichen Zoids abgeschlossen, meistens zerfallen die Würmer sehr schnell von hinten her, während die Kopfsegmente in ihrem geschrumpften Zustande länger erhalten bleiben. Die Lebensdauer dieser Zooide muß mit etwa 4 Wochen angegeben werden: Weder Freilandmaterial noch die während der Jahre 1953 und 1954 beobachteten Laboratoriumstiere ließen sich länger als einen Monat halten, aber auch nach meinen Beobachtungen am Schloßteich von Waldsee werden geschlechtliche Zooide nicht älter. In einem Zeitraum von 2 Monaten begann die Geschlechtsperiode zunächst mit geringem Prozentsatz, hatte nach 4 Wochen die überwiegende Masse der Population erfaßt und am Ende des 2. Monats fanden sich nur noch wenige Geschlechtstiere mit meist leerem Geschlechtsapparat. Da um diese Zeit die Lebensbedingungen sich entscheidend änderten (Absinken der *Ceratophyllum*-Büschel bei Frost), war auch das Aufkommen einer Periode ungeschlechtlicher Fortpflanzung nicht zu beobachten.

Der Tod der Geschlechtszooide von *Stylaria* erscheint nach diesen Beobachtungen als Nerventod, wobei immerhin auffällig ist, daß es gerade das Hinterende ist, das versagt. Dies veranlaßt mich auf besondere morphologische Strukturen aufmerksam zu machen, nach denen dieses Hinterende nicht, wie man vermuten sollte, der undifferenzierte Teil des Wurmes ist, sondern zu seiner Haltefunktion besonders ausgerüstet ist. Diese Sonderfunktion des Hinterendes scheint es auch zu sein, die versagt.



Abb. 9

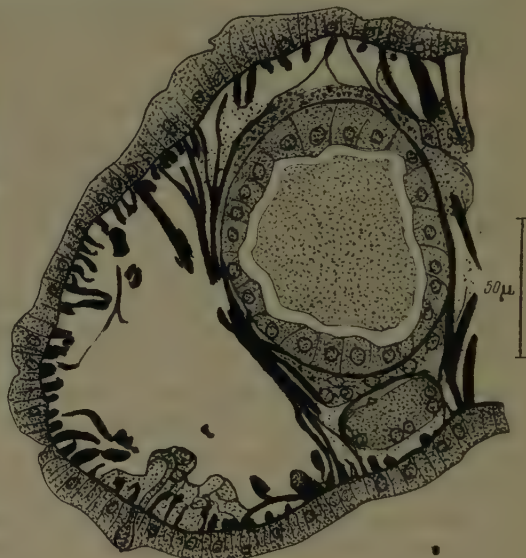


Abb. 10

Abb. 9. Teil eines Querschnitts durch das Hinterende eines Geschlechtszooids mit verlängerten Bauchborsten. Eisenhämatoxylin

Abb. 10. Teil eines Querschnitts durch das Hinterende eines Geschlechtszooids mit dorso-ventralen Muskelzügen an den Segmentgrenzen. Azanfärbung

Die besonderen Strukturen dieser Region sind zunächst verhältnismäßig lange und kräftige Ventralborsten, mit einer bedeutenden Muskulatur ausgerüstet. Da der Querschnitt des Wurmes am Hinterende am kleinsten ist, können diese Ventralborsten sehr weit vorgestoßen werden, sind also zum Festhalten besonders geeignet (Abb. 9).

Außerdem besitzt das Hinterende noch besondere dorsoventrale Muskelzüge, die rechts und links am Darm entlang ziehen (Abb. 10). Sicherlich geben sie dem Hinterende einen besonderen Halt, während sonst bei den Oligochäten ein dorsales Mesenterium fehlt. Auch in ventrolateraler Richtung scheinen die Cölomwände am Hinterende von *Stylaria* verstärkt zu sein. Diese Feststellungen lassen erkennen, daß das Pygidium von *Stylaria* eine Differenzierung besitzt, die auf funktionelle Sonderaufgaben schließen läßt.

II. Lebensgeschichte der ungeschlechtlichen Zooide

1. Methodisches

Nachdem die Untersuchung der Geschlechtszooide eine so ausgesprochene Individualität hatte erkennen lassen, eine begrenzte Lebensdauer und konkrete Absterbeerscheinungen, sollte nun auch versucht werden zu untersuchen, inwieweit Ähnliches für die ungeschlechtlichen Zooide nachgewiesen werden kann. Einer solchen Untersuchung steht zunächst einmal die Tatsache entgegen, daß die auswachsenden Zooide immer wieder mehr oder weniger schnell in Stücke zerlegt werden, die ihrerseits wieder auswachsen.

Unter den vielen Autoren, die sich mit den Teilungsvorgängen bei den limikolen Oligochäten befaßt haben (STOLTE 1955), ist meines Wissens keiner, der die Biologie eines Einzelzoids berücksichtigt hat. Und doch kann man bei all diesen Formen immer wieder das Auftreten von Einzelzoiden beobachten, die als einzigen Ort von Neubildungsvorgängen die pygidiale Wachstumszone besitzen.

Durch die komplizierten Teilungsverhältnisse der schnellwachsenden Formen kommt es zu einer ganz unübersichtlichen Altersfolge der Segmente, während durch das Wachstum lediglich des Pygidiums das Alter der Segmente klar erkennbar ist. Während *dort* durch die Zwischenschaltung der aus der Teilungszone hervorgehenden Segmente immer junge Segmente zwischen alte eingeschaltet werden, wobei bei *Stylaria* diese Folge noch weiter dadurch kompliziert wird, daß die Teilungszone allmählich unter Einfügung eines alten Segmentes nach vorn rückt, erweist sich *hier* das vorderste Rumpfsegment als ältestes Segment des Zoids, während die davorgelegenen 5 Kopfsegmente nach dem Zeitpunkt ihrer Bildung in der Teilungszone bedeutend jünger sind als die vorderen Rumpfsegmente entsprechend der frühen oder späten Anlage der Zonen im davorgeschalteten „Muttertier“. Es muß aber auch daran erinnert werden, daß manche ungeschlechtlichen Zooide vollständig aus einer Teilungszone hervorgehen und dann die Altersfolge der Segmente wieder eine regelmäßige ist.

Es mußte also versucht werden, einen Weg zu finden, bei dem alle Teilungsvorgänge ausgeschaltet wurden und nur das Wachstum des Pygidiums weiterging. Da beide Vorgänge in erster Linie von der zur Verfügung stehenden Nahrungsmenge abhängig sind, mußte versucht werden, diese so zu dosieren, daß nur das Längenwachstum erhalten blieb.

Aus einer Reihe neuester Arbeiten geht hervor, daß die Fütterung der Versuchstiere bei den Oligochäten Regenerations- und somit auch Wachstumsvorgänge günstig beeinflussen kann: HYMAN (1941) empfahl für Kulturen von Naididen besonders Salataufgüsse, HAUSCHKA (1944) berichtet, daß die Teilungsrate von *Dero* durch Beigabe des Vitamin B-Komplexes zum Detritusfutter bedeutend erhöht wurde, für *Lumbricillus*

lineatus, einen Enchyträiden, gibt HERLANT-MEEWIS (1946 [1, 2]) an, daß günstige Bedingungen die Regeneration der Gonaden von 10% auf 30% der Versuche steigere. Dabei war Qualität und Quantität des Futters, die entscheidend waren, nur schwer zu bestimmen.

Ganz neuerdings hat HERLANT-MEEWIS (1954) behauptet, daß Naididen sich für Zuchtversuche überhaupt wenig eignen, da sie sehr bald in degenerative Zustände geraten. Eigene unveröffentlichte Versuche an *Nais*, die vor mehreren Jahrzehnten angestellt wurden, ließen bei den Zuchttieren ähnliche Veränderungen, vor allem des Chloragogens, erkennen. Da wir aber nicht wissen, wie lange solche Zooide der verwendeten *Nais*-Arten leben, ist keine Entscheidung zu fällen, ob diese Zustände physiologischer oder pathologischer Natur waren. Bei diesen Naidenversuchen konnte auch nicht das ausgeglichene Milieu geschaffen werden, das für *Stylaria* zur Verfügung stand, und die Versuche wurden deshalb damals abgebrochen.

Bei *Stylaria* hat schon vor längerer Zeit ECKERT (1934) versucht, Nahrungsaufnahme und Zonenwachstum in Beziehung zueinander zu setzen. ECKERT fütterte auf Grund längerer Erfahrungen Stylarien mit Detritus, der von Wasserpflanzen abgestreift war und überwiegend Desmidiaceen enthielt. Oder er entnahm Detritus älteren Aquarien, die aber keine Blaualgen enthalten durften. Mit diesem verschiedenen Futter konnte ECKERT wechselnde Intensitäten des Zonenwachstums erzielen. Er hatte damit aber offenbar auch das O₂-reiche Milieu geschaffen, das ich in meinen Boveri-Schalen erreichte, denn der Autor spricht von Fällen, in denen Geschlechtstiere entstanden, die er ausschaltete, da sie für seine Versuche wertlos waren. Merkwürdigerweise berichtet ECKERT aber nie über die Lebensdauer seiner Versuchstiere, da ihn nur das Zonenwachstum interessierte. Die Versuche wurden 7 Wochen lang durchgeführt.

ECKERT (1934) gelang es auch nicht, Quantität und Nährwert des Futters zu trennen. Aber er kommt zu der Überzeugung, daß der Nährwert der aufgenommenen und resorbierten Nahrung für die Geschwindigkeit der morphogenetischen Prozesse ausschlaggebend ist.

Schon früher (STOLTE 1927) habe ich angegeben, daß Chloragogen-schwärzung unter ungünstigen Bedingungen auch degenerativen Charakter haben kann; daß sie diesen Charakter nicht haben muß, wie HÄMMERLING (1932) für *Nais* behauptet, geht aus den Mitteilungen von v. HAFFNER für *Lumbriculus* und HERLANT-MEEWIS (1946) für *Lumbri-cillus* hervor. Bei *Stylaria* sah auch ECKERT (1934) diese Schwärzung normalerweise nicht, was mir ein weiterer Beweis zu sein scheint, daß er die Einzeltiere nicht sehr lange hielt.

Den Beginn der Chloragogenablösung an den vordersten Rumpsegmenten konnte ich bei den Kontrollbeobachtungen im natürlichen

Biotop in Waldsee immer feststellen, und ich halte diese Erscheinung ebenso für physiologisch, wie v. HAFNER (1928) die Verbindung von Chloragogenschwärzung und Herabsetzung der Schlagfrequenz des Rückengefäßes zur Bestimmung des relativen Alters der Segmente benutzte.

Eine Überlastung des Chloragogens mit Abfallstoffen, unter denen das Darmgewebe zusammenbricht, wie ich für *Nais* berichtete, sah ich dagegen selten bei *Stylaria*. Vielleicht kommt es infolge der sehr lebhaften Bewegungen der Stylarien hier leichter zum Zerreißen der Gewebe. Nach meinen Beobachtungen spielt jedenfalls der Zustand des Chloragogen Gewebes für die Beurteilung des Alters auch der ungeschlechtlichen Zooide eine bedeutende Rolle.

Um nun die Anlage von Teilungszonen in einer die übrigen Lebensfunktionen nicht schädigenden Form zu unterdrücken, hielt ich die Stylarien in meinen präparierten Boveri-Schalen und fügte täglich oder jeden zweiten Tag bei Wasserwechsel eine Pipette mit Detritus, der auf die von ECKERT mitgeteilte Weise gewonnen war, hinzu. Da allerdings über die Qualität des jeweiligen Futters nichts Genaueres ausgesagt werden konnte, mußte die Futtermenge der Qualität einigermaßen angepaßt werden. Der häufige Wasserwechsel war notwendig, da die Würmer bei lebhaftem Fressen innerhalb von 24 Std eine beträchtliche Menge Fäces abgeben, die beseitigt werden müssen, selbst wenn sie für die Algen in der Schale eine Stickstoffquelle darstellen. *Stylaria* braucht zum Gedeihen einen sehr hohen Sauerstoffgehalt der Zuchtschale. *Ceratophyllum*-blättchen in die Zuchtschale zu geben war unpraktisch, wie schon oben erwähnt wurde, auch deshalb, weil für die ganze Untersuchung völlig intakte Tiere die Voraussetzung des Gelingens waren.

Das Ausgangsmaterial für die Kulturen waren reichlich knospende Stylarien aus den Schloßteich in Waldsee während der Sommermonate. Sie wurden in Einzel- und Sammelkulturen gehalten mit der oben erwähnten Fütterungsmethode.

Fixiert wurde nach Betäubung in Chloreton in FLEMMINGS starkem Gemisch, Bouin, Sublimat-Eisessig und Susa-Gemisch, gefärbt mit Eisenhämatoxylin, Azan, DELAFIELDSchem und WEIGERTSchem Hämatoxylin. Die Schnittdicke betrug 7,5 μ .

2. Lebensablauf der ungeschlechtlichen Zooide

Bei der oben geschilderten Haltung der knospenden Stylarien klang die ungeschlechtliche Vermehrung allmählich ab. Zur Zeit intensiver Teilung treten bei *Stylaria* gewöhnlich 3—4fache Ketten auf, deren Formel etwa so wiederzugeben wäre:

$$\begin{array}{cccc} \text{I} & \text{III} & \text{II} & \text{IV} \\ \underbrace{\quad} & \underbrace{\quad} & \underbrace{\quad} & \underbrace{\quad} \\ 21 & — & 20 & ? \end{array}$$

Das heißt: Vorderzooïd mit 21 rückenborstentragenden, also Rumpfsegmenten (dazu sind noch 5 Kopfsegmente zu rechnen, um zur absoluten

Segmentzahl zu kommen). Das nächste Zooid III läßt noch keine Segmente erkennen, weil es noch embryonal ist, mit Ausnahme eines ausgewachsenen. Zooid II besitzt 20 Rumpfsegmente und als letztes Zooid ist das auswachsende Hinterende zu rechnen, das noch keine abgeschlossene Segmentzahl hat.

Eine häufige Beobachtung war nun die, daß in meinen Kulturen nach einigen Tagen sich Zooid II von I + III löste und damit Zooid III

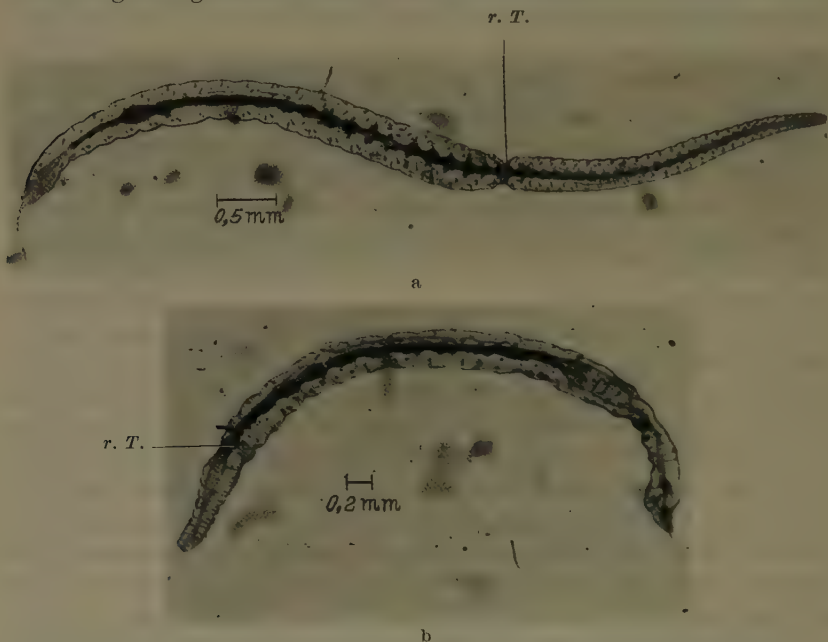


Abb. 11a u. b. a Langes ungeschlechtliches Zooid mit 56 Segmenten; b kurzes ungeschlechtliches Zooid, mit reversibler Teilungszone (r. T.). Photos

in der Lage war auszuwachsen (s. STOLTE 1955, S. 746, Abb. 706d). Somit war aus der vierfachen Kette eine zweifache geworden. Löste sich später III von I, so war I in der Lage nach hinten auszuwachsen. Dabei kam es entweder zu der Anlage einer neuen Zone, die eventuell eine zwei- oder dreifache Kette zustande kommen ließ, oder aber die Teilungszone konnte nur noch das Stadium einer reversiblen Zone (ECKERT) erreichen, die bald wieder eingeschmolzen wurde und von der nur eventuell eine Zellansammlung in der Leibeshöhle als Hinweis übrigblieb (Abb. 11a, b). Zuletzt erhielt sich nur noch das pygidiale Wachstum.

Es ist allerdings nicht zu leugnen, daß diese kontinuierliche Reduktion der Teilungsvorgänge von einem Unsicherheitsfaktor begleitet war: der Beurteilung der Futterqualität, die unsicher blieb, auch wenn das Detritusfutter frisch von *Ceratophyllum* abgestreift war. So konnte ich

beobachten, daß ein sehr reichliches Grünalgenfutter zur Verfügung stand, mit dem sich die Stylarien den Magen derartig auffüllten, daß er schwarz und aufgebläht erschien. Man hatte aber nicht den Eindruck, daß diese Nahrung den Darm schnell verließ und verdaut wurde, und sie führte auch nicht zu einem Aufleben der Teilungsvorgänge.

Das Gedeihen der Zuchttiere konnte also nicht durch eine Dosierung des Futters gesichert werden, sondern mußte an dem Verhalten abgelesen werden, so z. B. an der Tatsache, daß die Würmer bis zum letzten Tage eifrig fraßen und daß auch im Freiland wie in den Kulturen die brockige Ablösung des Chloragogens einsetzte.

Ein solches ungeschlechtliches Zooid ohne Teilungszone hat nun wirklich Individualität in einem anderen Sinne als das Zooid einer Kette, da es vom Prostomium bis zum Pygidium eine funktionelle Einheit bildet. Auch die Altersfolge dieser Reihe von Segmenten ist völlig klar: Die Rumpfsegmente sind eine nach hinten abnehmende Altersreihe und die fünf Kopfsegmente entsprechen im Alter etwa den mittleren Rumpfsegmenten, denn sie wurden im Muttertier etwa mit diesen gleichzeitig angelegt.

Als Illustration zu dem Gesagten möchte ich in den folgenden Tabellen einige Protokollauszüge wiedergeben: Tabelle 1 stellt eine Gruppe von 32 Stylarien aus dem Schloßteich von Waldsee dar, die am 14. 7. 54 gesammelt und am 16. 7. auf ihre Zusammensetzung geprüft wurde.

Die Tabelle 1 zeigt deutlich, daß die Länge n des Vorderzoids bei 3fachen Ketten kürzer ist als bei 2fachen. Jene haben den Mittelwert 16,5, diese 19,4: Stärkere Sprossung und kürzere Zooide haben bekanntlich die gleichen Ursachen.

Tabelle 1. 16. 7. 54

Dreifache Ketten	Zweifache Ketten	Dreifache Ketten	Zweifache Ketten
18/—/?	21/?	15/—/?	21/?
20/—/?	20/?	18/—/?	21/?
16/—/? (28 Segmente)	18/?	16/—/?	21/?
16/—/? (20 Segmente)	18/?	21/—/?	15/?
16/—/? (20 Segmente)	18/?	19/—/?	20/?
16/—/? (24 Segmente)	22/?	14/—/?	18/?
12/—/?	22/?	16/—/?	
16/—/?	16/?	20/—/?	
15/—/?	20/?		

Die erste Zahl gibt die Rumpfsegmente des Vorderzoids (I) an, der waagerechte Strich den Bereich des Zoids III ohne fertige Segmentierung, das Fragezeichen das am Hinterende dauernd auswachsende Zooid II, manchmal unter Angabe (in Klammer) der bereits ausgebildeten Segmente.

Nach 6 Tagen wurde eine zweite Gruppe von Stylarien der gleichen Herkunft geprüft. Sie zeigte die folgende Zusammensetzung (Tabelle 2):

Tabelle 2. 20. 7. 54

Zweifache Ketten	Einzelzooide	Zweifache Ketten	Einzelzooide
18/?	17 Zooide	17/?	17 Zooide
19/?	mit	3fache Kette:	mit
15/?	auswachsendem	19/—/?	auswachsendem
21/?	Pygidium		Pygidium

Unter den 23 Individuen der Tabelle 2 hatten sicherlich alle Hinterzooide nach ihrer Abtrennung keine Zone angelegt, und die Zooide III.

soweit vorhanden, hatten sich überwiegend vom Zooid I abgelöst.

Tabelle 3. 24. 7. 54

Zahl der Körpersegmente der Stylarien	
16/12/?	36
16/32/?	32
17/?	22/30/?
39 (h. 18. Segment Zonenrest)	27
37 (h. 14. Segment Zonenrest)	49
33	46
26	33
46	39,3 Mittelwert
34	
14	
22	
38	
51	
46	
36	
30	
37	
34	
25	
28	
33,4 Mittelwert	

Indieser Kultur fand ich die oben beschriebene übernormale Füllung von Magen und Darm mit Grünalgen.

Die eben besprochene Kultur (Tabelle 2) war mit 10 Ketten angesetzt worden, die in 6 Tagen fast alle in ihre Einzelzooide zerfallen waren. Es war nun von Interesse, die wirklichen Segmentzahlen solcher zonenlosen Stylarien festzustellen. Aus einer Massenkultur gleicher

Herkunft wurden 4 weitere Tage später folgende Zahlen für die Rumpfsegmente gefunden (s. Tabelle 3):

Diese sehr wechselnden Zooidlängen müssen gruppenweise in ihren Besonderheiten betrachtet werden: Die Segmentzahlen der noch vorhandenen Ketten müssen natürlich zusammengezählt werden, um mit den übrigen Werten verglichen werden zu können: Diese Werte sind dann: 28, 48, 52. Trotzdem bleiben noch einige sehr kurze Zooide, z. B. eines mit 14 Segmenten. Aber bei der täglichen Futtergabe ließ es sich kaum ganz vermeiden, daß einige räuberische Mitbewohner in die Kulturen gelangten. Ihnen fielen hin und wieder hintere Segmente der Würmer zum Opfer.

In dieser Zusammenstellung interessieren aber in der Hauptsache die höchsten Segmentzahlen, nicht die Mittelwerte; sie betragen unter

Hinzuzählung der Kopfsegmente: 51, 54, 56. Die längsten ungeschlechtlichen Zooide haben also wiederum Segmentzahlen zwischen 50 und 60, also ganz so wie die Geschlechtszooide. Mehr als 60 Segmente habe ich während einer mehrjährigen Beobachtungszeit nie feststellen können.

Eine weitere Prüfung erfolgte 11 Tage nach der Einbringung ins Laboratorium. Es handelte sich um 2 Massenkulturen, die an verschiedenen Orten aufgestellt waren. Diese Kulturen wurden in großen flachen Schalen mit *Ceratophyllum* gehalten. Eine Kultur A stand relativ warm und im Lichte, Kultur B kühl und im Halbdunkel.

In der Kultur A waren unter 11 entnommenen Individuen 10 Einzeltiere, die meisten von ihnen irgendwie verletzt, in Kultur B waren von 11 Individuen noch 8 2- oder 3fache Ketten vorhanden. Offenbar waren in der höheren Temperatur die Ketten weitgehend zerfallen, Insektenlarven und andere Wassertiere hatten ihnen stark zugesetzt.

Weiter fiel in diesen beiden Kulturen auf, daß sehr lange Einzelzooide einen leeren Darm hatten, während der Darm der kürzeren Zooide meist gut gefüllt war. Das könnte man so deuten, daß die langen Zooide am Ende des Wachstums die Futteraufnahme herabsetzen. Chloragogenbrocken fanden sich bei kürzeren und längeren Würmern.

Daß die Zooide mit großen Segmentzahlen (um 50) sich nach dem Pygidium zu stark verjüngen, spricht dafür, daß das Wachstum derartig langer Zooide unmittelbar vor dem Abschluß steht (Abb. 11a).

Bei Material verschiedener Herkunft unter den ungeschlechtlichen Zoiden wurden nun auch Messungen vorgenommen, und zwar nach schwacher Betäubung mit Chloreton, das keine nennenswerte Kontraktion der Würmer hervorruft. Gemessen wurde mit dem Okularmikrometer.

I. Frisches Material aus Waldsee (2—3fache Ketten): Länge 9,5, 9,75, 11,5, 9,75 mm. Breite 0,33, 0,33, 0,3, 0,33 mm.

II. Ältere Tiere, schon länger in Einzelkultur gehalten, mit Chloragogenbrocken: Länge 7,75, 8,75 mm, Breite 0,3, 0,25 mm.

III. a) Würmer am 14. 7. 54 aus Waldsee in Kultur genommen, am 4. 8. Kopfteil entfernt. Nach seiner vollständigen Regeneration gemessen (Versuch Hh): Länge 4,75, 4,85, 4,5 mm, Breite 0,2, 0,15, 0,25 mm. b) Am 4. 8. 54 10 hinterste Segmente entfernt, die kaum regeneriert wurden (Versuch Ji): Länge 4,0, 4,5, 7,5, 4,75 mm, Breite 0,2, 0,2, 0,2, 0,25 mm.

Offenbar ist der Schrumpfungsprozeß bei der Gruppe III sehr weit fortgeschritten, so daß sie gegenüber dem frischen Material nur noch die halbe Länge besitzt und auch in der Breite um etwa ein Drittel reduziert ist. Bei der Gruppe IIIb ist dies ja kein Wunder, da die Regeneration des Hinterendes bis auf einige winzige Segmentanlagen ausgeblieben ist.

Durch die hier durchgeführten Haltungs- und Fütterungsmaßnahmen gelingt es also, ähnlich einer Futterdosierung, alle Teilungsvorgänge zu unterdrücken und lediglich das pygidiale Wachstum zu erhalten, bis auch dieses Wachstum an seine äußerste Grenze mit 50—60 Segmenten kommt.

Es muß aber auch in diesem Zusammenhange daran erinnert werden, daß ECKERT (1927) der Meinung ist, daß die Anlage einer Teilungszone mit vom Differenzierungsgrad der Segmente bestimmt wird, auf unseren Fall der alternden Zooide angewandt würde das heißen, daß die alternden Segmente weitgehend nicht mehr in der Lage sind, eine Teilungszone anzulegen. Also nicht nur Futterdosierung, sondern auch das fortgeschrittene Segmentalter würde danach die Zonenbildung verhindern.

Denn nun vollziehen sich an den ungeschlechtlichen Zooiden all die Altersveränderungen, die wir schon bei den Geschlechtszooiden beobachteten, so z. B. die vorn beginnende und nach hinten weiter fortschreitende Ablösung des Chloragogens in Brocken, wohlgemerkt im Freilandmaterial ebenso zu beobachten wie in den Kulturen. Diese Veränderungen scheinen aber die Nahrungsaufnahme nicht zu beeinträchtigen, da der Darm dieser Tiere meist gut gefüllt ist. Und noch bis in die letzten Tage vor dem Tode konnte man die Stylarien beim Fressen beobachten, auch wenn die Reizbarkeit soweit nachgelassen hatte, daß die Würmer auf Berührungsreize in eine Kreisbewegung mit eingerolltem Hinterende übergingen, eine Bewegung, die nicht nur nicht förderte, sondern auch von kurzen, zuckenden Bewegungen und dem oben beschriebenen Körperzittern unterbrochen wurde. Schließlich sanken die Tiere auf den Boden der Schale.

Und noch in einem anderen Punkte gleichen die alten ungeschlechtlichen den geschlechtlichen Zooiden: Ich hatte für die letzteren angegeben, daß nach Abgabe der Geschlechtsprodukte ihr Vorderkörper mit Ausnahme der Kopfsegmente in aufgeblähtem Zustande verbleibt und ich vermutete, daß dieser Zustand durch die den Vorderkörper ausfüllenden Geschlechtsorgane verursacht ist. Nun konnte ich aber feststellen, daß auch die alternden ungeschlechtlichen Zooide diese Blähung des Körpers in der Region der vorderen Rumpfsegmente aufwiesen (Abb. 12). Auch hier waren oft die 5 Kopfsegmente davon nicht betroffen, im Gegenteil, sie können geschrumpft erscheinen. Ich möchte diese Tatsache so deuten, daß in der Region der vorderen Rumpfsegmente durch die Zerstörung des Chloragogenbezuges *das exkretorische Gesamtorgan gestört* ist. Infolgedessen gibt die Leibeshöhle zu wenig Flüssigkeit ab und wird dadurch aufgebläht. In Übereinstimmung damit steht, daß das 1. Nephridialpaar bei *Stylaria* im 7. Segment liegt, also in den vordersten Rumpfsegmenten. Auch die zelligen Bestandteile der

Leibeshöhle scheinen nicht mehr abgeführt zu werden und sammeln sich in der hinteren Leibeshöhle.

Da wir nun gesehen haben, daß auch das Wachstum des Pygidiums bei ganz alten Tieren schließlich zum Stillstand kommt, so ist es notwendig, diese Vorgänge noch genauer zu betrachten. Damit wird aber die Frage nach dem Schicksal der Neoblasten (Blastocyten) in der Wachstumszone aufgeworfen, die wir am besten klären können durch

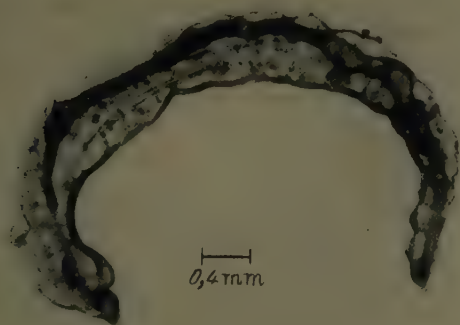


Abb. 12. Ungeschlechtliches Zoid mit aufgeblähter Leibeshöhle, zusammengefallenem Darm, kurzem Rüssel und spitz zulaufendem kleinen Pygidium, kurz vor dem Absterben.
Photo

eine vergleichend-histologische Untersuchung junger und alter Pygidien aus Freiland und Laboratoriumsmaterial.

III. Zur Histologie der Wachstumszone

Nach allem, was bisher über geschlechtliche und ungeschlechtliche Zooide in der vorliegenden Untersuchung festgestellt wurde, war zu erwarten, daß zwischen beiderlei Zoiden, ebenso zwischen jungen und alten Würmern gewisse histologische Unterschiede zu beobachten sind. Im folgenden mag eine Darstellung in Wort und Bild diese Unterschiede erläutern.

Das Pygidium einer *Stylaria* (Abb. 8) setzt sich zusammen aus einem bauchmarklosen Endabschnitt mit der Mündung des Darmes und einem davor gelegenen mehr oder minder ausgedehnten Abschnitt, der die Wachstumszone umschließt und mit dem letzten Bauchborstenpaar seinen vorderen Abschluß findet. Davor ist der Wurm segmental gegliedert.

Während der bauchmarklose Endabschnitt bei jungen und alten, ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Stylarien überall einigermmaßen

gleich lang ist (etwa 5—6 Schnitte zu $7,5\mu = 45\mu$), wechselt die Länge und das Aussehen der Wachstumszone sehr erheblich und ist damit ein ausgezeichneter Gradmesser für den Lebenszustand des Zooids. Auf diesen Punkt soll sich die folgende Darstellung konzentrieren.

Das in Abb. 8 wiedergegebene Hinterende eines Geschlechtszooids von 44 Segmenten, das sich in Vollreife befindet, besitzt nur noch eine sehr kurze Wachstumszone. Hier ist das Wachstum allmählich zum Stillstand gekommen.

Betrachtet man dagegen das Pygidium eines ungeschlechtlichen Zooids mit reger Zellproliferation am Hinterende, so stellt man fest, daß die Wachstumszone sich über 14—16 Schnitte erstreckt und in anderen Fällen 11 Schnitte lang ist, also 120 bzw. 82μ beträgt, daß dabei aber auch der Endabschnitt sich auf 6—9 Schnitte verlängern kann. Eine Wachstumszone würde also die 3fache Länge dieser Bildung beim reifen Geschlechtstier erlangen, das Endstück höchstens auf $67,5\mu$, also um die Hälfte sich verlängern.

Diese Verschiedenheit in der Länge der Wachstumszone ist aber nur der Ausdruck veränderter Wachstumsbedingungen der die Zone zusammensetzenden Zellen.

Betrachten wir zunächst einen Querschnitt durch die Mitte einer jugendlichen normalen Wachstumszone (Abb. 13), so sehen wir dort eine reiche Ansammlung von Zellen, im Mesoderm in 2 Zentren rechts und links vom Bauchmark liegend und sich von dort an der Innenseite des Hautmuskelschlauches wie an der Außenseite des Darmsystems nach oben hinziehend. Es kann durch diese Zellproliferation die ganze Leibeshöhle erfüllt sein, und auch das Hautepithel besteht aus zwei Reihen von Zellkernen. Die starke Blutversorgung ist durch einen ringförmigen Sinus, der wohl dem Darmblutsinus entstammt, gekennzeichnet (Abb. 14). Am Hinterende der Wachstumszone geführte Schnitte (Abb. 15) lassen erkennen, daß der in der Leibeshöhle rechts und links vom Bauchmark liegende Zellhaufen sehr große Zellen, Neoblasten mit großen Nukleolen aufweist. Unterhalb dieser Anhäufungen sind solche Zellen offenbar in das Epithel übergetreten und haben hier die Kernreihen verdoppelt, während eine solche Verdoppelung unter dem Bauchgefäß vollkommen fehlt. An diesem Punkte der Wachstumszone fehlt ein Bauchmark noch, es baut sich erst weiter vorn aus 2 Anlagen auf.

Betrachten wir die Querschnitte Abb. 16a und b, die in der entsprechenden Region eines anderen Exemplars geführt sind, so zeigt sich bei a immerhin in der ventralen Mittellinie eine Zellansammlung, die einer Bauchmarkanlage entsprechen dürfte. Auch hier ist die Beweglichkeit der im Mesoderm liegenden Zellen zu erkennen, die sich in b mit pseudopodienartigen Fortsätzen nach unten schieben. Ginge die Zellvermehrung vom Ektoderm aus, wie von so vielen Autoren

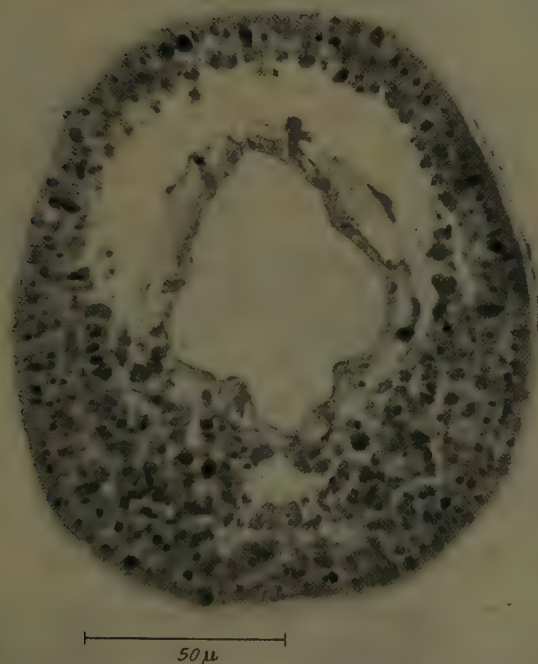


Abb. 13. Querschnitt durch die Wachstumszone eines jüngeren Geschlechtszoids

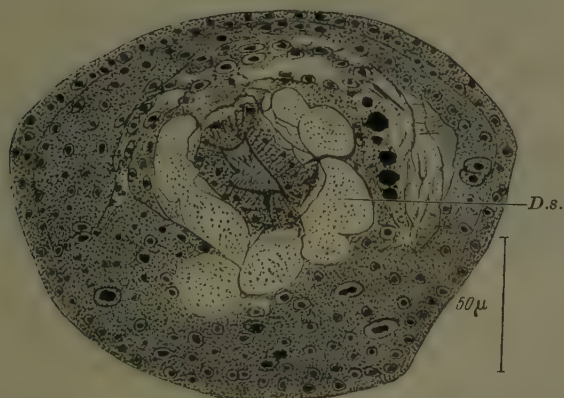


Abb. 14. Querschnitt durch die Mitte einer jungen Wachstumszone eines ungeschlechtlichen Zoids. Eisenhämatoxylin. *D.s.* Darmsinus

behauptet wurde (STOLTE 1955), so müßte im Ektoderm dieser Vorgang durch Mitosenbildung feststellbar sein, während die Ansammlung der

Zellen im Mesoderm überwiegend durch Zuwanderung zustande kommt. Das Hautepithel dieser Region weist Lücken zwischen den Zellen auf,



Abb. 15. Ventraler Teil eines Querschnitts durch den hintersten Abschnitt des Pygidiums von Abb. 13. Proliferationszentren rechts und links vom Ventralgefäß (v.G.)



Abb. 16 a u. b. Ventraler Teil zweier aufeinanderfolgender Querschnitte durch das Pygidium unmittelbar vor dem in Abb. 15 dargestellten Schnitte. Azanfärbung. B.m. Bauchmark, L Lücken zwischen den Hautepithelzellen, z.Z. zuwandernde Mesodermzellen

die den Zellübertritt vom Mesoderm her andeuten, wie bei *Dero* beschrieben wurde (STOLTE 1933 [1]).

Weiter vorn geführte Querschnitte (Abb. 17) zeigen die ganze Leibeshöhle von Zellen erfüllt, das Ektoderm verdickt und meist mit 2 Zell-

reihen ausgerüstet. Über die Herkunft der Zellen ist in diesem Stadium nichts mehr festzustellen.

Vergleichen wir mit diesen normalen Bildern nun solche, die Querschnitte durch die Pygidien alternder Zooide wiedergeben, insbesondere solcher Stylarien, die die typischen Absterbeerscheinungen in Haltung und Bewegung zeigen, so finden wir Bilder, die wir ohne die Kenntnis der sonstigen biologischen Gegebenheiten gar nicht verstehen würden: Auch hier sind, wie bei den Totalpräparaten, zunächst einmal eigentümliche Veränderungen an allen Organen in abgestufter Form nachzuweisen.

Am auffälligsten und am ersten wird offenbar die Epidermis beeinflußt. Sie ist frühzeitig sehr faltig (Abb. 18) und löst sich auch oft von der Hautmuskulatur ab, wie das im Anfangsstadium Abb. 7 zeigt. Auch beobachtet man häufig an älteren Würmern, daß die Haut eingerissen ist, so daß der Wurm in seiner Gesamtheit nur durch Darm und Chloragogen zusammengehalten zu werden scheint. Die Faltung der Haut wird auch besonders an den Kopfsegmenten sichtbar und erinnert im ganzen sehr stark an die Bilder, die RAHM (1934) und PREU (1938) als Strahlungsschäden bei Naiden veröffentlicht haben, wenn diese Autoren die indifferenten Zellen durch Radium- oder ultraviolette Strahlen ausgeschaltet hatten.

Bei diesen weitgehenden Veränderungen der Haut ist das Intaktbleiben von Darm und Bauchmark besonders auffällig. Während in den hinteren Segmenten auch das Chloragogen in der oben geschilderten Weise von vorn nach hinten einer allmählichen Zerstörung anheimfällt, ebenso die Körpermuskulatur, bleibt das Darmepithel und das Bauchmark merkwürdig unverändert und offenbar funktionstüchtig (Abb. 19). Nur so ist es auch verständlich, daß die Stylarien bis kurz vor dem Absterben beim Fressen beobachtet werden konnten, und daß älteste Tiere einen gut gefüllten Darm besaßen.

Diese letztere Tatsache scheint dafür zu sprechen, daß die von mir als Altersveränderungen angesprochenen Erscheinungen nicht als durch ungünstige Ernährung hervorgerufene Schädigungen anzusehen sind, *es wird aber auch damit der von mir so oft behauptete Primat der Ernährung für den Lebensablauf von Stylaria bestätigt.*

Das Bauchmark ist durch das ganze Zooid hindurch von den Altersveränderungen unberührt geblieben, mit der Ausnahme ganz später Zustände, die weiter unten besprochen werden sollen.

Die für die Existenz der Zooide entscheidendsten Vorgänge spielen sich nun aber in der Wachstumszone ab. Sie sollen an der Hand einiger Abbildungen etwas genauer besprochen werden:

Wir hatten gesehen, daß die Wachstumszone normalerweise mit zwei Zellhaufen rechts und links der ventralen Mittellinie beginnt und sich

über 10—12 Schnitte von $7,5 \mu$ Dicke erstreckt, wobei die ganze Leibeshöhle dicht von Zellen erfüllt ist und auch das Hautepithel wesentlich

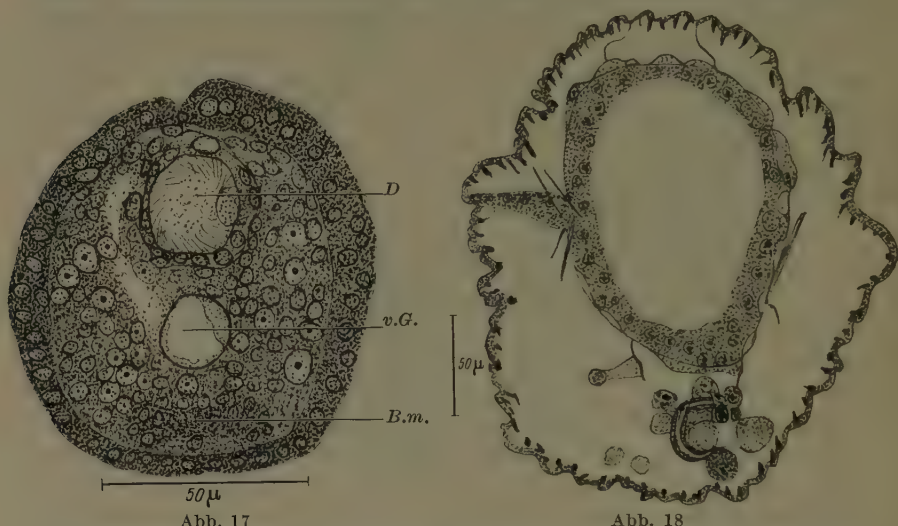


Abb. 17. Querschnitt durch den vorderen Teil der Wachstumszone, deren Zellen die Leibeshöhle erfüllen. Eisenhämatoxylin. *B.m.* Bauchmark, *D* Darm, *v.G.* ventrales Gefäß

Abb. 18. Querschnitt durch ein altes Zooid mit stark geschrumpfter Haut

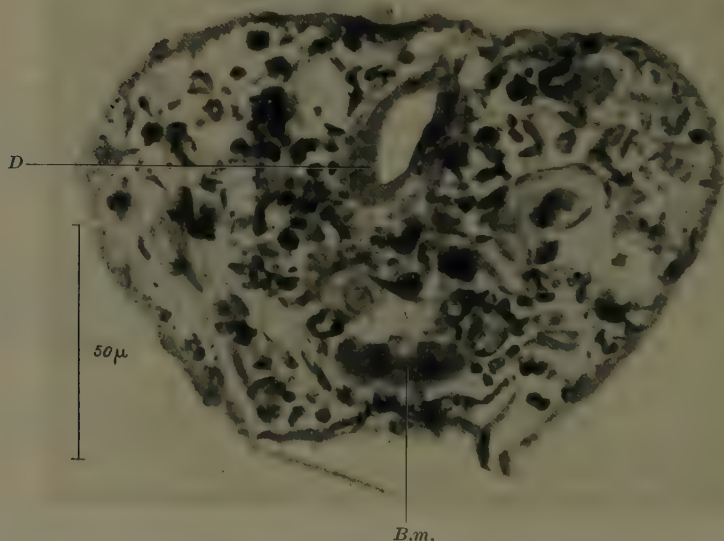


Abb. 19. Querschnitt durch das Hinterende eines sehr alten Zooids mit weit fortgeschrittener Gewebeerstörung. Photo. *B.m.* Bauchmark, *D* Darm

verdickt ist. Am hintersten Bauchborstenpaar findet diese Zellvermehrung ihr vorderes Ende und je eine Zellreihe am rechten und linken

Rande des Bauchmarks charakterisieren diesen aus der Wachstumszone hervorgegangenen Abschnitt des Nervensystems.

Bei alten Individuen treten nun folgende Veränderungen ein: Die Wachstumszone ist bedeutend kürzer, bei Geschlechtstieren auf 5 Schnitte ($= 37,5\mu$) reduziert, also mindestens auf die Hälfte normaler Würmer. Ähnliches gilt für ungeschlechtliche Zooide. Hier kann die Wachstumszone sich auf 3 anstatt 10—11 Querschnitte verkürzen.

Der zweite wichtige Unterschied zwischen einer alten und einer normalen Wachstumszone ist das Fehlen einer verdickten Epidermis in der ersteren. Überall in der Epidermis ist nur eine Zellreihe sichtbar.

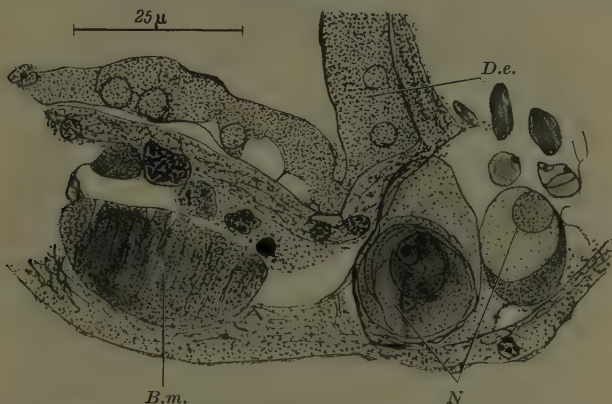


Abb. 20. Ventrolateraler Ausschnitt aus einem Querschnitt durch das Hinterende der pygidialen Wachstumszone desselben Zooids (Abb. 19). Das Proliferationszentrum ist nur einseitig vorhanden. B.m. Bauchmark, D.e. Darmepithel, N Neoblasten

Grundlegend haben sich aber offenbar die beiden ventrolateralen Zellhaufen im Mesoderm verändert. Während bei jungen Zooiden diese Zellhaufen durch ihre Regelmäßigkeit der Anordnung und durch ihre riesigen Nukleolen auffallen (Abb. 15), sind bei alten Tieren diese Zellhaufen manchmal sogar nur einseitig vorhanden, fehlen also auf der anderen Seite vollständig (Abb. 20).

Am Hinterrand der Zone besteht dieser Zellhaufen aber aus ganz wenigen Zellen, die in ganz merkwürdiger Weise verändert sind. Es fehlt ihnen der große Nukleolus, die übrige chromatische Substanz ist nur ganz undeutlich zu erkennen und auch die Färbung des Plasmas ist wolkig und ungleichmäßig. Diese Zellen machen mehr den Eindruck von Phagocyten als von undifferenzierten Blastocyten. Mustern wir aber die nach vorn anschließenden Schnitte, so sind dort Leibeshöhle und die angrenzenden Gewebe erfüllt von Zellen, die Phagocytencharakter haben (Abb. 21). Im Darmepithel wie in der Haut sind solche Zellen überall nachzuweisen. Sie fallen durch den Mangel an Chromatin gegenüber den normalen Gewebezellen auf und die die Leibeshöhle erfüllenden Zellen sind mit Chloragogenkörnchen beladen.

Man geht wohl nicht fehl in der Annahme, daß es sich dabei um undifferenzierte Zellen handelt, die, ihrer eigentlichen Aufgabe im Pygidium entfremdet, als Phagocyten alle Gewebe durchsetzen. Sie begleiten Darm und Chloragogen ziemlich weit nach vorn.

Offenbar bedeutet diese Erscheinung das Ende der Wachstumszone, ein Ende, das in dieser Klarheit nur bei ganz alten Stylarien sichtbar wird und parallel geht mit Funktionsstörungen des Hinterendes.

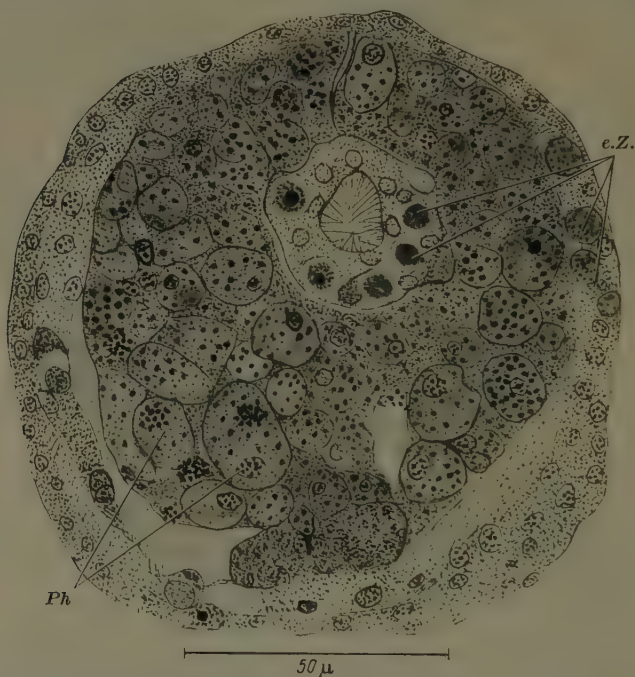


Abb. 21. Sehr altes Geschlechtszoid mit Zellen von Phagocytencharakter in der Leibeshöhle, in Haut- und Darmepithel, innerhalb des Pygidiums. *e.Z.* eingewanderte Zellen, *Ph* phagocytierende Zellen mit Chloragogenkörnern im Plasma

Bei derartig alten Zoiden bemerkt man nun auch, daß Muskulatur und Nervensystem von den Alterserscheinungen betroffen werden. So sehen wir bei einem ungeschlechtlichen Zoid (Abb 19), daß vor der Wachstumszone die ganze Leibeshöhle von freien Zellen, Chloragogenbrocken und Muskelstückchen in Spindelform erfüllt ist, und am Hinterende der Wachstumszone dieses ganz alten Zooids (Abb. 20) bemerken wir auch am Bauchmarkquerschnitt Veränderungen, die einer Auflösung des geweblichen Gefüges gleichkommen. Hier werden die histologischen Grundlagen für das Versagen der Halte- und Schwimmfunktion des Hinterendes der Würmer sichtbar.

Daß das Nervensystem des Hinterendes als ein wichtiges Zentrum anzusehen ist, war schon oben (S. 381) erörtert worden.

Aus diesen histologischen Tatsachen muß der Schluß gezogen werden, daß *in der letzten Altersphase des Zooids auch die Wachstumszone Schaden leidet*, ihre Zellen auswandern, in die Nachbargewebe eintreten oder weitgehend die Muskulatur zerstören und so das Nerven-Muskelsystem am Hinterende außer Funktion setzen. Für diesen Vorgang sind 3 Ursachen denkbar:

Entweder führt der Zerfall des Chloragogengewebes dem Pygidium viele Abfallstoffe zu (Abb. 22), die schließlich zu einer Vergiftung der

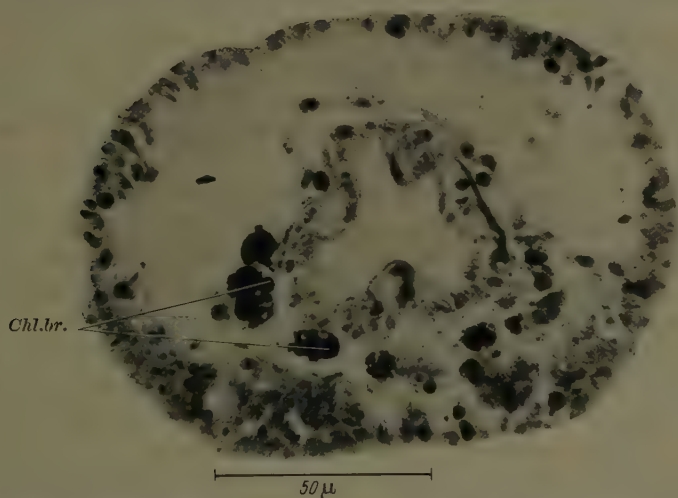


Abb. 22. Querschnitt durch das Hinterende eines alten ungeschlechtlichen Zooids ohne Neoblastenzentren. Photo. Die Verdickung der ventralen Haut ist durch die Abrundung der Haut am Körperende verursacht. Chl.br. Chloragogenbrocken

Leibeshöhlenflüssigkeit führen, von der auch die undifferenzierten Zellen erfaßt werden und den Gewebekomplex der Wachstumszone verlassen.

Oder mit Erreichung der größten Länge des Zooids (in Abhängigkeit von der ernährenden Darmoberfläche) erhält die Wachstumszone nicht mehr genügend Nährstoffe und deshalb nehmen ihre Zellen Phagocytencharakter an und wandern aus.

Oder die Zellen der Wachstumszone wandern als Blastocyten in die Gewebe ein, um sie zu erneuern, da mit zunehmendem Alter diese Gewebe an Blastocyten verarmen. Die undifferenzierten Zellen würden dann hier dieselbe Rolle spielen, die sie nach RAHM (1934) und PREU (1938) nach Bestrahlung der Gewebe übernehmen.

Welche der 3 Möglichkeiten auch die richtige sein möge, jedenfalls bleibt als Grundlage aller Deutungen die Tatsache, daß das Wachstumszentrum aufgelöst wird.

Diese Tatsache hat eine gewisse Ähnlichkeit mit Feststellungen, die ich (STOLTE 1937) bei dem Polychäten *Polyophthalmus pictus* DUJ. machen konnte, wo bei männlichen und weiblichen Tieren nach dem Ablachen die restlichen Keimzellen in die Gewebe wandern, diese zerstören und schließlich zerfallen.

Da es sich bei *Stylaria* nicht um Keimzellen, sondern um undifferenzierte Zellen handelt, können die gleichen Vorgänge bei geschlechtlichen wie ungeschlechtlichen Zooiden beobachtet werden.

Mit diesen histologischen Feststellungen ist ein weiterer Beweis für eine zeitlich begrenzte Lebensdauer für die Zooide von Stylaria lacustris erbracht worden.

Als Ergänzung zu dem Vorstehenden möge eine kurze Schilderung von Regenerationsvorgängen an alten und jungen Stylarien folgen, Versuche, die ursprünglich anderen Zielen dienten, die aber einiges Licht auf weitere Besonderheiten alternder Zooide werfen können.

IV. Regenerationsversuche an alternden Stylarien

Seit ABEL (1904) ist die Regeneration von *Stylaria* immer wieder als besonders gut bezeichnet worden, nicht nur im ungeschlechtlichen Zustande, sondern auch die Geschlechtsorgane werden, wie JANDA (1927) mitgeteilt hat, bis zur Funktionsfähigkeit regeneriert.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, inwieweit Regenerationsfähigkeit auch solchen Zooiden erhalten bleibt, bei denen lediglich das Pygidium noch Wachstumsvorgänge erkennen läßt. An dieser Stelle konnte versucht werden, die Behauptung ECKERTS (1927), daß die Anlage einer Teilungszone von einem bestimmten Differenzierungsgrad der dafür in Frage kommenden Segmente abhängt, einer Prüfung zu unterziehen. Denn sicherlich gehen Regenerationsvorgänge und Teilungszonenbildung auf das gleiche zelluläre Geschehen zurück, nach unserer Ansicht auf die Aktivierung von Blastocyten.

Es wurden Versuchsreihen durchgeführt mit Amputation des Kopfteiles (1.—5. Segment) sowie des Kopfteiles und des vorderen Rumpfteiles (1. bis 10. Segment) zum Zwecke der Regeneration des Vorderkörpers, andere Versuchsreihen bestanden in der Entfernung der letzten 10 Segmente zur Regeneration des Hinterkörpers eines Zooids.

Die Beobachtung des äußeren Regenerationsgeschehens — nur dieses soll hier besprochen werden — ließ folgendes klar erkennen:

Die Regeneration des Kopfteils verlief immer sehr schnell, gleichgültig, ob nur die 5 Kopfsegmente oder zusätzlich auch Vorderrumpfsegmente entfernt waren. Sie erfolgte bei jüngeren und älteren Würmern so, daß nach 72 Std das Kopfgenerat von vorn her differenziert war und damit Rüssel, Augen und die Segmente des Kopfteiles sichtbar wurden; in manchen Fällen war die vollständige Differenzierung erst

mit 90 Std erreicht. Der Kopfteil war also nach 3—4 Tagen voll funktionsfähig. Bei den Geschlechtszoiden zeigten sich zu diesem Zeitpunkt zunächst Rückbildungserscheinungen am Geschlechtsapparat, der nach JANDA erst nach 3—4 Wochen wiederhergestellt ist.

Im Gegensatz zu dieser schnellen Regeneration am Vorderkörper stand die sehr langsame oder überhaupt fehlende Wiederherstellung entfernter Hintersegmente: Es bildete sich unter den bekannten Fütterungsbedingungen nur ein winziger Regenerationskegel, aus dem, solange die Versuchstiere lebten, höchstens ein Regenerat von Segmentlänge sich entwickelte. Niemals kam es zu einer Wiederherstellung der entfernten Segmente.

Man könnte hier einwenden, daß dazu die Futterquote nicht ausreichend gewesen sei oder daß durch die Kürzung des Wurmes um ein Drittel die übrigbleibende Darmoberfläche zur Ernährung des Regenerates nicht ausgereicht habe oder schließlich, daß eben diese Segmente schon zu alt zur Regeneration seien bzw. dort nicht mehr genügend Blastocyten zur Verfügung ständen. Besonders dieser letzte Einwand scheint mir Gewicht zu haben, da aus der verkleinerten Wachstumszone auch eine mangelhafte Versorgung neugebildeter Segmente mit undifferenzierten Zellen abzuleiten ist. Dabei ist zu beachten, daß ungeschlechtliche Zooide bei vorherrschendem sexuellem Zustande der Population ja von vornherein als Exemplare mit herabgesetzter Vitalität angesehen werden müssen.

Was man aber auch anführen mag, die Regeneration des Kopfteiles, für den alle diese Einwände mutatis mutandis auch bestehen, erschweren die Deutung dieser Versuche.

Es sei deshalb hier noch eine Versuchsreihe besonders angeführt, die in gewisser Weise den Schlüssel zur Deutung aller Regenerationsversuche enthält:

Am 30. 9. 54, also zu einem Zeitpunkt, der kurz vor Beginn der Geschlechtsperiode im Schloßteich von Waldsee lag, wurden 2 Gruppen von Würmern operiert. Bei der einen Kultur Qq war das hintere Drittel der Segmente entfernt, bei der anderen Kultur Ss ebenfalls (12 bis 17 Borstensegmente). Am 3. 10. waren in beiden Gruppen Regenerationskegel entwickelt, am 5. 10. hatte dieser Kegel schon die Länge eines oder zwei ausgewachsener Segmente und enthielt die Anlage von 5 bis 10 Dissepimenten. Fast alle Tiere ließen einen Geschlechtsapparat erkennen. Daneben gab es einige ungeschlechtliche Exemplare, bei denen das Wachstum des Regenerates sehr viel langsamer vor sich ging.

Am 7. 10. hatte ein Geschlechtszoid mit 17 alten Borstensegmenten im Regenerat 6 junge ventrale Borstenpaare angelegt, ein ungeschlechtliches Zoid mit einem Regenerationskegel von einer Segmentlänge dagegen hatte noch keinerlei Borstenbündel entwickelt. In Zucht Ss finden

wir einen Wurm mit 23 Borstensegmenten und einem Regenerat von 2 Segmentlängen bei beginnender Sexualität und ein noch ungeschlechtliches Exemplar mit 10 ausgewachsenen Rumpfsegmenten, denen sich 6—7 bauchborstentragende regenerierte Segmente anschließen. Am 10. 10. haben sich in beiden Kulturen die regenerierten Segmente der am besten auswachsenden Zooide auf 17 bzw. 10 vermehrt und haben sich in der Größe den vorderen Segmenten angeglichen, der Geschlechtsapparat ist vollentwickelt, während auch am 13. 10. ein ungeschlechtliches Exemplar noch immer erst ein Regenerat von der Länge eines Segmentes besitzt.

Wir sehen also bei diesen beiden Zuchten, die im Moment höchster Vitalität, d. h. kurz vor Beginn der Sexualität, untersucht wurden, daß sich diese Vitalität auch auf das Regenerationsgeschehen auswirkt, und so können wir sagen, daß das vorher besprochene Versagen der Regeneration des Hinterendes auf Mangel an Vitalität oder mangelhafte Ernährungsverhältnisse zurückzuführen ist.

Von diesen Feststellungen aus kann auch das Abklingen der Wachstumsvorgänge bei alten geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Zooiden auf eine ungenügende oder durch Altersveränderungen geschädigte resorbierende Darmoberfläche zurückgeführt werden.

Dagegen fordert die immer gleichmäßig gut verlaufende Regeneration der Kopfsegmente eine andere Erklärung: Schon früher hatte IVANOFF (1928) den Kopfteil der Anneliden als homolog dem Hauptteil der Trochophora bezeichnet und ihm eine Sonderstellung eingeräumt. Bei den Oligochäten kommt diese Stellung im Fehlen der Dissepimente und auch der Neoblasten zum Ausdruck, also gerade der Gewebe, die für die Regeneration ausschlaggebend sind.

Diese Sonderstellung bekommt aber noch erhöhte Bedeutung, wenn wir daran denken, daß bei der Anlage des Kopfteiles in der Teilungszone das embryonale Zellmaterial eine ganz beschränkte Aufgabe hat, nämlich nur 5 Segmente anzulegen, während der vordere Teil dieser Zone der Ausgangspunkt für das fast unerschöpfliche Wachstum des Pygidiums darstellt.

Man könnte also vermuten, daß die beschränkte Aufgabe der Kopfteilanlage einen großen Potenzenschatz übrigläßt, eine Quelle, aus der die Regenerationsvorgänge immer wieder gespeist werden, ohne daß Neoblasten auftreten. So könnte man sich auch denken, daß diese Neubildungen am Vorderende vom Ernährungszustand des Zooids relativ unabhängig sind.

Zu diesem unterschiedlichen Resultat der Regeneration des Vorder- und Hinterkörpers paßt nun gut das Ergebnis einer Untersuchung der dazugehörigen Wachstumszonen: Die Wachstumszone eines Wurmes, bei dem auf regenerativem Wege die Kopfsegmente wiederhergestellt

waren, hatte eine normale Länge von 15 Schnitten zu $7,5\mu$, also von $112,5\mu$, während die Wachstumszone am Hinterende eines um ein Drittel verkürzten Wurmes nur 4 Schnitte, also 30μ lang war. Offenbar ist an diesem künstlich erzeugten Hinterende die Zuwanderung der Neoblasten entsprechend dem Alter des Zooids sehr viel geringer. Trotzdem ist das histologische Bild dieser Zone (Abb. 23) sehr viel normaler als das wahre Hinterende eines gleich alten Wurmes. Denn beim Zustand der Wachstumszone eines Wurmes spielen außer dem Alter der Seg-



Abb. 23. Querschnitt durch das Hinterende eines um ein Drittel zwecks Regeneration verkürzten alten Zooids. Photo. *Chl.br.* Chloragogenbrocken, *N* einseitige Neoblastenansammlung

mente Größe und Zustand der resorbierenden Darmoberfläche und die Anzahl der zuwandernden indifferenten Zellen eine Rolle.

Damit möge die Schilderung der histologischen Verhältnisse in den pygidialen und regenerativen Wachstumszonen abgeschlossen werden und es bleibt noch übrig, die Gesamtheit der in der vorliegenden Arbeit festgestellten Tatsachen einheitlich zu gruppieren und so den Lebensablauf der geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Zooide von *Stylaria lacustris* unserem Verständnis näherzubringen.

D. Deutung der Befunde im Rahmen einer Darstellung des Lebensablaufes der Zooide

Wenn wir uns ein Bild machen wollen, unter welchen Bedingungen sich das Leben der Zooide von *Stylaria* vollzieht, müssen wir danach trachten, die Zooide vom Schlüpfen aus dem Ei bis zum natürlichen Tode zu beobachten.

Dieser Betrachtung soll die Annahme zugrunde gelegt werden, daß stoffwechselphysiologische Vorgänge diesen Ablauf entscheidend bestimmen. Die starke Umweltabhängigkeit der Naididen läßt sich so verstehen, daß eine bestimmte resorbierende Darmoberfläche für das Wachstum und die Fortpflanzung notwendig ist. Durch ein Nährstoffgefälle werden die totipotenten Zellen, die im Körper verteilt sind, an bestimmten Punkten aktiviert und diese Aktivierung führt zur Bildung von Teilungszonen, führt zum Wachstum am Hinterende im Pygidium und zur Anlage von Geschlechtsorganen. Die Anlage einer Teilungszone ist auf einen Bereich n beschränkt, ein Wert, der die Zahl der Segmente angibt, hinter der die Zone angelegt wird. Dieser Bereich hat eine vordere Grenze, die das Minimum der resorbierenden Darmoberfläche darstellt, die eine Zone zuläßt. Die hintere Grenze des Wertes n stellt das Maximum an Darmoberfläche dar, das noch Zonenbildung ermöglicht. Bei bester Ernährung genügt das Minimum, bei schlechter Ernährung noch das Maximum zur Zonenanlage. Die Grenze des Längenwachstums mit 50—60 Segmenten kann als die Grenze für die Erhaltung des Individuums mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Darmoberfläche angesehen werden. Die Erscheinungen der Sexualität und des Alterns lassen sich auf entsprechende stoffwechselphysiologische Vorgänge zurückführen.

Vor einer Reihe von Jahren hat LIEBMANN (1943) auf Grund von Untersuchungen an Lumbriciden Ansichten über das Regenerationsgeschehen bei dieser Oligochätenfamilie entwickelt, die sich in ähnlicher Richtung bewegen. Er bezeichnet das Chloragogen als lymphotropes System und unterscheidet in ihm fettführende Eleocyten als freie Zellen mit trophischen Aufgaben, die sich zu Aggregaten oder „Körpern“ zusammenschließen können. Diese Zellen geben an den Punkten, zu denen sie hinwandern, Stoffe ab, sie sind also Träger der formativen Funktionen. LIEBMANN bezeichnet diese Zellen als funktionsspezifisch, sie sind Überträger der in Leibeshöhle und Blutsystem vorhandenen Nährstoffe.

LIEBMANNs Auffassung beruht also ebenfalls auf einer stoffwechselphysiologischen Grundanschauung; seine Unterscheidung mehrerer Zellsorten im Chloragogen (außer Eleocyten noch Amöbocyten mit Phagocytencharakter), während der auffällige Typ der Neoblasten den Lumbriciden fehlt, erschwert den morphologischen Nachweis dieser physiologischen Vorstellungen. Weiter unten wird nochmals auf LIEBMANNs Ansichten zurückzukommen sein.

Meines Wissens gibt es außer der Angabe DAWYDOFFs (1941), daß *Stylaria* beim Schlüpfen aus dem Ei noch einen geschlossenen Enddarm besitzt und die Endodermzellen sehr dotterreich sind, keine Angabe darüber, in welcher Form die Naididen das Ei verlassen.

Das freie Leben im Biotop beginnt mit dem Wachstum des Pygidiums und der Bildung von Segmenten, bis schließlich die Stoffwechselbedingungen so gut sind, daß eine erste Teilungszone, etwa hinter dem 26. Segment, also am hinteren Ende des Bereiches von n , angelegt wird.

Daß eine Ausbildung zum Geschlechtszooide nicht am Anfang des individuellen Lebens steht, kann daraus geschlossen werden, daß ein über die Norm hoher Ernährungsstatus Voraussetzung für die Anlage von Keimdrüsen ist (STOLTE 1921), zu dem ein hoher O_2 -Gehalt des Wassers treten muß.

Mit der Anlage einer oder mehrerer Teilungszonen setzt nun jenes zusätzliche Wachstum an den hinteren Hälften dieser Zonen ein, das weitgehend von einer Reihe von Faktoren abhängig ist (STOLTE 1922; ECKERT 1927). Allerdings berührt dieses Teilungswachstum die Einheit des Vorderzooids, von dem es stoffwechselphysiologisch abhängig ist, nur wenig.

Es ist nicht unbedingt notwendig, daß dieses zusätzliche Wachstum immer und überall auftritt, zur Kettenbildung führt und damit den individuellen Charakter des ursprünglich ungeteilten Zoooids verändert. Es gibt vielmehr unter den Naididen auch Formen mit sehr geringem Teilungsvermögen, das zu höchstens zweifachen Ketten führt. Und überall findet man auch Exemplare, die keinerlei Teilungszone besitzen, ein Zustand, der durch mangelhafte Ernährung u. a. herbeigeführt werden kann.

Wenn aber keinerlei Teilungszone auftritt, geht auch das pygidiale Wachstum nicht über eine gewisse Länge hinaus, die bei *Stylaria* mit 50—60 Segmenten, also der doppelten Länge in Teilung befindlicher Würmer erreicht ist. Ein solcher ungeteilter Zustand gibt den Stylarien einen individuellen Charakter, klare Altersbeziehungen der Segmente und damit eine bestimmte Lebensdauer, die im natürlichen Tode des Zoooids endet.

Von dieser ungestörten Einheitlichkeit eines Zoooids müssen wir ausgehen, um die Veränderungen zu verstehen, die in ihrer Gesamtheit als Altersveränderungen angesehen werden müssen.

Die auffälligste, aber auch umstrittenste Erscheinung ist eine von vorn (dem 6. Segment) beginnende und allmählich zunehmende Verdunkelung des Chloragogenbezuges von Darm und Rückengefäß unter gleichzeitiger Ablösung einzelner Körnchen bzw. größerer Brocken, die in die Leibeshöhle fallen. Diese Chloragogenschwärzung beginnt also bei dem ältesten Segment des ganzen Zoooids und schreitet kontinuierlich nach hinten fort, kann sogar so weit gehen, daß Teile des Darmes von Chloragogen entblößt sind. Mit der Zeit sammeln sich diese Chloragogenbrocken mehr und mehr in den hintersten Segmenten des Zoooids an.

LIEBMANN (1942 [1]) sieht diese schwarzen Brocken bei *Eisenia* als normales Resultat der Exkretion an, nämlich als von Amöbocyten aufgenommene zerfallende Eleocyten, die durch die Nephridien abtransportiert werden. Auch HÄMMERLING (1924 [2]) hat in seinen Zuchten von *Aeolosoma* bei alten Tieren eine Bräunung des Körpers festgestellt, die wohl aber auf braune Tropfen in der Haut zurückzuführen ist. Andere Literaturangaben über diesen Punkt wurden schon früher (S. 378) erwähnt.

Gleichzeitig mit dieser Schwärzung kommt es zu weitgehender Schrumpfung der Haut einschließlich der Kopfsegmente. Sie ist ähnlich den Hautveränderungen, die RAHM (1934) und PREU (1938) bei bestrahlten Naiden geschildert haben. Auch der Ausfall von Rückenborsten und die Verkürzung des Rüssels von *Stylaria* sind wohl solche Hautschädigungen und haben ihre Parallele in den Bestrahlungsergebnissen. Wenn nach Ansicht der Autoren die Bestrahlung mit Radium- und Ultraviolettstrahlen eine Ausschaltung der indifferenten Zellen bewirkt, könnte man bei den alternden Zooiden an eine solche Verarmung der Gewebe an Blastocyten denken.

Während dieser Gewebeveränderungen bleibt nun aber die Nahrungsaufnahme der Würmer unverändert bestehen, wenn wir auch nicht wissen, ob diese Nahrung noch in normaler Weise resorbiert wird. Auch die Schwimm- und Kriechbewegung der Würmer ist ebenso normal wie die Freßlust. Das Hinterende des Wurmes mit seinen besonderen Strukturen ermöglicht noch eine feste Haftung der Tiere an der Unterlage.

Erst in den letzten 24—48 Std des individuellen Lebens zeigen die Zooide weitere auffällige Veränderungen ihres Verhaltens: das Haften an der Unterlage läßt plötzlich nach und das sonst gestreckte Pygidium wird nun leicht eingerollt gehalten. Die Kriechbewegung ist verlangsamt und die Schwimmbewegung fördert nicht mehr, geht vielmehr häufig in ein über den ganzen Körper laufendes Zittern über. Da das Schwimmen ohne rechte Wirkung ist, sinken die Tiere, einmal aufgestört, schnell nach unten ab. Dies alles ist gleichzeitig der Ausdruck dafür, daß die allgemeine Reizbarkeit stark herabgesetzt ist.

In diesem Stadium ist der Körper vielfach aufgebläht, und da diese Erscheinung dort beginnt, wo normalerweise das erste Nephridienpaar liegt, nämlich im 7. Segment, könnte man annehmen, daß als Ursache ein Versagen der Exkretionsvorgänge vorliegt.

In diesem Zustande zerfallen die Würmer meist von hinten nach vorn.

Besonders eindrucksvolle Altersveränderungen lassen sich an der pygidialen Wachstumszone ablesen, die bei alternden Zooiden nur einen Bruchteil der Ausdehnung normaler Wachstumszonen erkennen läßt. In der Region des normalen Pygidiums ist das Hautepithel durchweg

zu zwei Reihen von Kernen verdickt und läßt Lücken zwischen den Zellen erkennen, das Pygidium alter Zooide dagegen besitzt nur *eine* Kernreihe und die Lücken im Epithel fehlen, vielmehr erscheint es als Syncytium.

In der normalen Wachstumszone wuchern mesodermale Zellhaufen (Neoblasten) ventrolateral gelegen, dorsalwärts und erfüllen im vorderen Teile des Pygidiums die ganze Leibeshöhle, bei alten Würmern dagegen verschwinden diese Zellhaufen bis auf wenige Zellen, manchmal nur noch auf einer Seite vorhanden. Entweder fehlen Zellen vom Neoblastentyp vollkommen oder sie haben ihr Aussehen verändert: Sie besitzen nicht mehr den großen Nukleolus, sondern ihr Kern ist klein, manchmal zerfallend, und ihr Plasma ist mit Chloragogenkörnern angefüllt. Diese Zellen scheinen nicht auf die Leibeshöhle beschränkt zu sein, sondern wandern in das Haut- und Darmepithel ein und zerstören die Muskulatur weitgehend. Man gewinnt den Eindruck, daß die omnipotenten Zellen im Mesoderm der Wachstumszone zu Amöbocyten bzw. Phagocyten umgewandelt sind, die einen Abbau der Gewebe betreiben, der schließlich zu den oben geschilderten funktionellen Störungen im Nerven-Muskelsystem führt.

Für diese Vorgänge liegen verschiedene Deutungsmöglichkeiten vor: Sieht man in dem Verhalten der Zellen der pygidialen Wachstumszone eine tiefgreifende Phagocytose, so besteht eine Parallele zu Mitteilungen über entsprechende Erscheinungen bei den Keimzellen von *Polyophtalmus pictus* DUJ., einem Polychäten (STOLTE 1937), wo die restlichen Keimzellen in die Gewebe einwandern und sie zerstören.

Man könnte aber auch annehmen, daß mit diesem Zustand des Pygidiums ein Erschöpfungsstadium der omnipotenten Zellen erreicht ist, wie das LIEBMANN (1942₂) bei Lumbriciden nach Regeneration und Sexualität für die Eleocyten, die Träger dieser Funktionen, angegeben hat. Schließlich könnte das Verhalten der letzten aktiven Blastocyten im Zoid als ein später Versuch angesehen werden, durch Einwanderung in die Epithelien regenerative Vorgänge in Gang zu bringen. Es würde sich dabei um einen durchaus normalen Vorgang handeln.

Von diesem Lebensablauf der ungeschlechtlichen Zooide unterscheidet sich der der Geschlechtszooide nur in wenigen Punkten:

Wenn die für die Sexualität notwendige Konstellation von Bedingungen vorliegt, werden an der hinteren Grenze der Teilungszone (späteres 5. und 6. Segment) bei *Stylaria lacustris* die Keimdrüsen angelegt und in mehreren gut unterscheidbaren Etappen erfolgt die Ausbildung zum vollreifen Wurm. Während dieser Zeit sind alle Teilungsvorgänge teils durch Abtrennung hinterer Zooide, teils durch Rückbildung angelegter (reversibler) Teilungszonen zum Stillstand gekommen.

Damit ist auch hier der Zustand der Individualität erreicht, die Grenze des Segmentwachstums solcher Zooide liegt ebenfalls bei 50—60 Segmenten. Schrumpfung der Haut, Ausfall der Borsten, Verkürzung des Rüssels, Aufblähung des Körpers, vor allen im Bereich des Geschlechtsapparates, und die sukzessive Schwärzung des Chloragogens werden in genau derselben Weise beobachtet, und zwar, wie nochmals ausdrücklich betont sei, im Freiland wie im Laboratorium, mit Ausnahme nur der letzten Absterbeerscheinungen.

Aber auch die oben geschilderten histologischen Veränderungen sowie die Besonderheiten im Verhalten der absterbenden Zooide beobachtet man bei Geschlechtstieren in der gleichen Weise.

Zu der Frage, ob nach Abschluß der Geschlechtsperiode von neuem ungeschlechtliche Vermehrung einsetzen kann und so vielleicht eine Verlängerung der Lebensdauer der Zooide eintreten könnte, muß bemerkt werden, daß die normale Lebensdauer eines Geschlechtszooids offenbar dessen Lebenskraft erschöpft, wenn die volle Geschlechtsreife mit Ablage der Keimzellen erzielt wird. Immer ist dann die Lebensdauer solcher Zooide, die auf höchstens 2 Monate veranschlagt werden muß, abgeschlossen. Nur in Ausnahmefällen, wenn etwa der geschlechtliche Zustand vorzeitig durch Abtrennung des Geschlechtsapparates unterbrochen wurde (s. S. 376), oder durch vorzeitiges Abklingen des sexuellen Zustandes kann es zur Neuanlage einer Teilungszone kommen, oft in der Region des Geschlechtsapparates, weil zu diesem Zeitpunkt dort am meisten Blastocyten zur Verfügung stehen (STOLTE 1933 [2], S. 110).

Die am Schluß der Untersuchung für unsere Fragen ausgewerteten Regenerationsversuche ließen einen wesentlichen Unterschied in der Regenerationsfähigkeit junger und alter Zooide erkennen: Während die Kopfregeneration in allen Fällen gleich schnell und vollständig verlief, zeigten junge Zooide eine wenn auch nicht sehr rege Regeneration hinterer Segmente, während bei alten Zoiden diese Fähigkeit völlig fehlte.

Diese Unterschiede lassen die von LIEBMANN (1942 [2]) vorgebrachte Ansicht annehmbar erscheinen, nach der bei *Tubifex* und einigen Lumbriciden 2 Eleocytenkörper vorhanden sind: Ein Zellaggregat für Kopfregeneration ist völlig unberührt von der Inanspruchnahme durch Sexualität, Regeneration und Hunger, während der Eleocytenkörper des Rumpfes durchaus auf diese funktionelle Inanspruchnahme reagiert.

Es sei auch in diesem Zusammenhange auf die von PREU (1934) mitgeteilte Angabe hingewiesen, daß innerhalb der Drüsenregion des Pharynx ein Blastocytenzentrum existiert, das für Regenerationsvorgänge am Vorderkörper verantwortlich sein könnte. Entsprechende Regenerationsversuche sind von mir in Angriff genommen worden.

Ich möchte am Schluß dieser Betrachtung aber nicht unterlassen, auf gewisse Unterschiede des Materiales hinzuweisen, in denen sich HÄMMERLINGS (1924 [2]) und meine Untersuchungen über die Lebensdauer unterscheiden. Wenn ich bei *Stylaria* die Lebensdauer der Vordertiere untersucht hätte, wie dies HÄMMERLING bei *Aeolosoma* tat, so hätten solche Zooide von *Stylaria* nicht nur die halbe Länge, sondern auch eine dauernd wechselnde Individuallänge gehabt. Denn ein Vordertier von *Stylaria* wird durch Teilungsvorgänge insofern in Mitleidenschaft gezogen, als etwa vom 26. Segment angefangen das Vordertier sich verkürzt bis auf 17 Segmente, dann wieder sich auf 26 Segmente verlängert, worauf dieser Prozeß von neuem beginnt. Die Aktivierung der omnipotenten Zellen erfolgt also immer an anderen Stellen des Körpers, getrennt noch durch ein ausgewachsenes Segment.

Die Altersveränderungen von *Stylaria lacustris* — und damit möchte ich die Resultate dieser Untersuchungen in den Rahmen einer von mir vertretenen Auffassung stellen — sind die Folge von veränderten Beziehungen zwischen Organismus und den ihm zur Verfügung stehenden Blastocyten. Normalerweise wird jedes im Hinterende neu entstehende Segment mit Zellen vom Neoblastentyp, im Mesoderm gelegen, ausgerüstet, wozu Abkömmlinge jener Zellen ebenfalls mesodermaler Herkunft treten, die in die Epithelien einwandern und hier als Basalzellen existieren. Alle diese Zellen, dazu die aktivierten Körperzellen, bezeichnete ich als Blastocyten (STOLTE 1933 [1], 1935). Denn auch Körperzellen können an morphogenetischen Brennpunkten aktiviert werden. Sie erfahren dann eine Embryonalisierung und nehmen das Aussehen von omnipotenten Zellen an.

Dieses Bildungsmaterial kann nun aktiv werden in der pygidialen Wachstumszone, in der Geschlechtsregion, zur Anlage einer Teilungszone oder im Regenerat. Aber eine solche Aktivierung scheint abhängig zu sein von dem Differenzierungsgrad der Segmente, d. h., wenn die Segmente ein gewisses Alter erreicht haben, erlischt die Möglichkeit der Aktivierung der in ihnen lagernden Neoblasten. So konnte ECKERT (1927) für *Stylaria* feststellen, daß ältere Tiere eine weiter zurückliegende Zone besaßen, die also in jüngere Segmente verlagert war, als nach ihrem Futterzustand zu erwarten war. Auch ich habe in meinem Material Exemplare mit sehr weit hinten nur angedeuteten Teilungszonen (Abb. 11).

So mag es geschehen, daß in sehr alten Zooiden die wenigen vorhandenen Neoblasten zu den Körperzellen nicht in Beziehung treten können, ihre Aktivierung unterbleibt und damit findet der Wachstumsprozeß sein Ende. In der Mitte des Tieres, wo normalerweise die Teilungs-

zone liegt, sind dagegen die Segmente jugendlich genug, um diese Aktivierung zu ermöglichen.

Daß hier eine Abstufung besteht, zeigt der Vergleich einer sehr alten pygidialen Wachstumszone mit einem künstlich durch Amputation des letzten Körperdrittels hervorgerufenen Pygidium: Während das erstere keinerlei Neoblasten oder Neoblastenabkömmlinge aufweist, findet man in dem regenerierten Pygidium Neoblasten, wenn auch vielleicht nur auf einer Seite, und einzelne mesodermale Zellen an der Leibeshöhlenwand verteilt (Abb. 23). Eine induzierende Wirkung dieses totipotenten Materials auf die Epithelien scheint aber oft zu fehlen. Infolgedessen unterbleibt auch die Regeneration. Für alle morphogenetischen Vorgänge im Zooid genügt offenbar nicht die Anwesenheit der undifferenzierten Zellen, sondern es ist dazu auch noch die induzierende Wirkung dieses Materials auf die Umgebung notwendig.

Wir erkennen hier, daß das Neoblastenmaterial in den Zoiden von *Stylaria lacustris* dieselbe Bedeutung hat wie die Urmesodermzellen in der Embryonalentwicklung der Oligochäten, Zellen, die durch ihre besonderen Substanzen in der Lage sind, formative Wirkungen auf die Umgebung auszuüben oder auch selbständige morphogenetische Leistungen zu vollbringen, wie PENNERS (1937) dies für *Tubifex* nachgewiesen hat. Die Bedeutung der Neoblasten ist kaum besser zu charakterisieren als mit den Worten von PENNERS: „Wir haben also im Mesoderm des *Tubifex*-Keimes die wesentlichen Momente zu suchen, die für den geordneten Ablauf der Differenzierungen und die gesamte Formbildung verantwortlich zu machen sind. Vom Mesoderm aus müssen besondere Kräfte oder Substanzen auf das Ektoderm und Entoderm einwirken, damit die Entwicklung in normaler Harmonie ablaufen kann. Das Mesoderm ist als das ordnende Prinzip im *Tubifex*-Keim anzusprechen.“

Besonders sei auch noch auf folgende Bemerkung von PENNERS in der gleichen Arbeit hingewiesen (S. 352):

„Eine weitere sich unmittelbar anschließende Untersuchung, die speziell der Analyse der Segmentierung gewidmet war, hatte aber das bedeutsame Ergebnis, daß auch das Entoderm einen Einfluß auf die Anzahl und Größe der embryonal sich anlegenden Segmente hat. Allerdings handelt es sich nur um einen mittelbaren, indem die Teilungstätigkeit der Teloblasten, der 2 Urmesodermzellen sowohl als auch der 8 Telektoblasten, sich abhängig erwies von der Substanzzufuhr aus dem Entoderm mit seinem Dottergehalt.

Ist die Entodermmasse groß, so sprossen die Teloblasten entsprechend mehr und größere Keimstreifzellen, als wenn sie klein ist; und

dementsprechend besitzt dann der Embryo eine größere oder geringere Anzahl von Segmenten.“

Besser kann die *Bedeutung des Stoffwechsels für die im Mesoderm verankerten morphogenetischen Vorgänge* nicht beschrieben werden.

Legen wir uns zum Schluß die Frage vor, welche Ursachen für den natürlichen Tod der Zooide von *Stylaria* entscheidend sind, so ist wohl klar zu erkennen, daß *diese Ursachen von den undifferenzierten Zellen aus wirksam sind*. Wir werden annehmen müssen, daß mit zunehmendem Alter die Verarmung der Segmente an undifferenzierten Zellen immer weiter nach hinten übergreift, eine Verarmung, die trotz der Wanderfähigkeit dieser Zellen, die gerade in letzter Zeit immer wieder nachgewiesen wurde (HERLANT-MEEWIS 1946 [1]; STÉPHAN-DUBOIS 1952; FAULKES 1953), nicht rückgängig zu machen ist, weil sie mit den absinkenden Stoffwechselleistungen der Zooide zusammenhängt. Schließlich wird von dieser Verarmung auch das Pygidium erfaßt, dessen Wachstumszone sich verkürzt, um sich schließlich aufzulösen. Dabei ändern die indifferenten Zellen ihren Charakter, werden zu Phagocyten und bauen wesentliche Teile der Organisation im Hinterende des Zooids ab. Als Folge dieser Histolyse kommt es zur Schädigung des Nerven-Muskelsystems im Pygidium, das Ausfallserscheinungen zeigt. Damit erweist sich der natürliche Tod dieser Zooide als Nerventod.

Die indifferenten Zellen sind weder Körper- noch Keimzellen, sondern embryonales Zellmaterial, das sich in Körper- oder Keimzellen differenzieren kann.

Zusammenfassung

1. Geschlechtliche und ungeschlechtliche Zooide von *Stylaria lacustris* L. wurden mit besonderen Haltungsmethoden auf Individualität, Lebensdauer und den natürlichen Tod untersucht. Parallel damit gingen Beobachtungen im natürlichen Biotop.

2. Geschlechtliche und ungeschlechtliche Zooide erreichen ihre Individualform mit etwa der doppelten Segmentzahl gegenüber den Zooiden in der Kette.

3. Geschlechtstiere, die abgelaicht haben, wie alte ungeschlechtliche Zooide zeigen im Laboratorium wie im Freiland Altersveränderungen: Diese bestehen in Schrumpfung der Haut und Ausfall der dorsalen Haarbörsten, Verdunkelung des Chloragogens und sein Zerfall in große und kleine Partikel sowie Verkleinerung der pygidialen Wachstumszone bis zum Verschwinden.

4. In den letzten 24—48 Std der auf 1—2 Monate zu veranschlagenden Lebensdauer kommt es zum Nachlassen der Schwimmbewegungen,

die durch ein den ganzen Körper erfassendes Zittern abgelöst werden. Auch die Haltefunktion der Segmente des Hinterkörpers erlahmt und das vorher gestreckte Pygidium wird eingerollt getragen. Diese Erscheinungen schließen mit dem Zerfall des Wurmes (meist hinten) ab.

Das Versagen der Schwimmbewegung und der Haltefunktion des Pygidiums, das dafür mit besonderen Strukturen ausgerüstet ist, läßt den Tod der Zooide als Nerventod erkennen.

5. Bei der histologischen Untersuchung des Pygidiums sind im Mesoderm 2 ventrolaterale Proliferationszentren erkennbar, deren Abkömmlinge in die Epithelien übertreten und dabei deren Zellen embryonalisieren. In alten Zoiden fehlt diese Einwanderung und damit werden die Epithelien nicht mehrschichtig. Schließlich verschwinden auch die mesodermalen Zentren.

6. Dieselben Mesodermzellen können den Charakter von Phagocyten annehmen und als solche in die Gewebe einwandern.

7. Spät oder gar nicht zeigen sich an Bauchmark und Darm histologische Altersveränderungen. Auch der Abbau der Körpermuskulatur erfolgt im Zusammenhang mit der Phagocytenbildung sehr spät. Daraus ist zu entnehmen, daß die Ernährung die Funktionen der Zooide beherrscht und daß das Versagen des Nerven-Muskelsystems den natürlichen Tod herbeiführt. Das Zugrundegehen der Neoblasten im Pygidium kann ebenso durch Mangel an Nährstoffen wie durch Vergiftung infolge angesamelter Exkrete verursacht sein.

8. Regenerationsversuche an alten Zoiden ließen erkennen, daß die Kopfsegmente völlig unabhängig vom Alter des Zooids regenerieren, während die Rumpfsegmente die gleiche Altersabhängigkeit zeigten wie das Wachstum. Hier war die Regeneration von der Anwesenheit der Neoblasten abhängig.

9. Die morphogenetischen Prozesse bei *Stylaria lacustris* kommen offenbar durch das Zusammenwirken von mesodermalen omnipotenten Zellen mit den Körperzellen zustande. Wo eine dieser Komponenten fehlt, unterbleiben Neubildungsvorgänge.

10. Die omnipotenten mesodermalen Zellen (Neoblasten) können auf Zellen von der Art der Urmesodermzellen zurückgeführt werden, wie ja auch in der Embryonalentwicklung der Oligochäten (*Tubifex*) das Mesoderm einen ordnenden Einfluß auf die Entwicklung des Keimes ausübt.

Diese Neoblasten sind weder Körper- noch Keimzellen, sondern embryonale Zellen vor einer solchen Differenzierung.

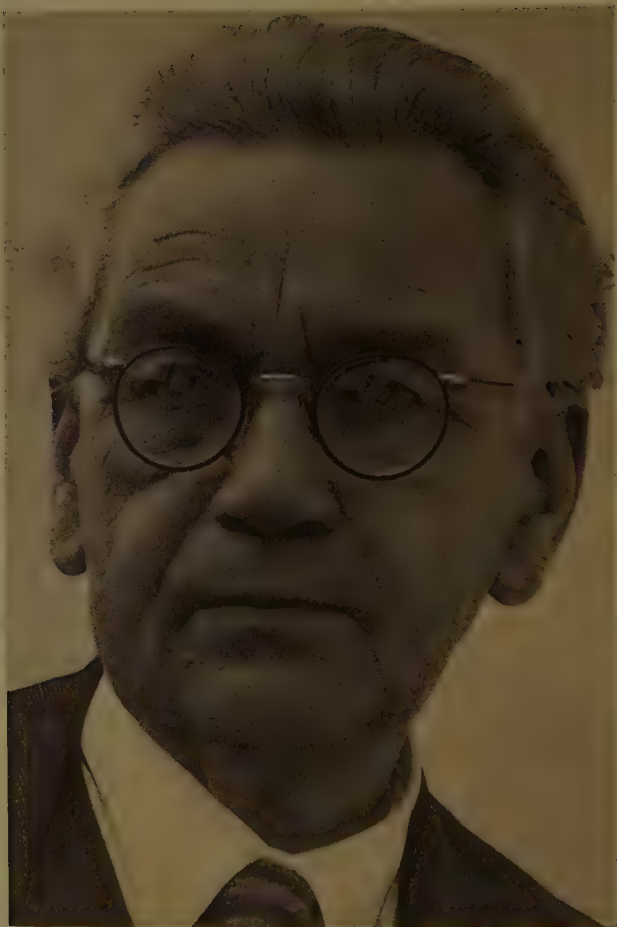
Literatur

- ABEL, M.: Zur Kenntnis der Regenerationsvorgänge der limikolen Oligochäten. Z. wiss. Zool. 73, 1—74 (1903). — DAWYDOFF, C.: Études sur l'embryologie des

Naides indochinois. Archives de Zool. 81, 173—194 (1941). — DEHORNE, L.: Les Naidimorphes et leur reproduction asexuée. Archives de Zool. 56, 25—157 (1916/18). — ECKERT, F.: Experimentelle Untersuchungen über die Lage der Teilungszone von *Stylaria lacustris* L. Z. wiss. Zool. 129, 582—642 (1927). — Untersuchungen über die Teilungszone von *Stylaria lacustris* L. I. Die regulatorische Resorption der Zone. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 47, 29—88 (1930). — Untersuchungen über die Teilungszone von *Stylaria lacustris* L. II. Der Einfluß der Nahrungsaufnahme auf die Geschwindigkeit des Zonenwachstums. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 54, 89—118 (1934). — FAULKES, R. S.: Regeneration of the anterior end of *Aulophorus furcatus* (Naididae) with special reference to effect of x-rays. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole 105, 80—86 (1953). — HÄMMERLING, J.: Über dauernd teilungsfähige Körperzellen bei *Aeolosoma hemprichii* (EHRBG.). Biol. Zbl. 44, 169—173 (1924 [1]). — Die ungeschlechtliche Fortpflanzung und Regeneration bei *Aeolosoma hemprichii*. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 41, 581—654 (1924 [2]). — Zur Frage des natürlichen Todes, besonders der vielzelligen Tiere. Naturwiss. 1932, 97—122. — HÄFFNER, K. v.: Über Beziehungen zwischen dem Segmentalter und der Funktion des Rückengefäßes bei *Lumbriculus*. Verh. dtsch. zool. Ges. 1928, 146—154. — HAUSCHKA, TH.: Fission Rate in *Dero* as influenced by B-Complex Vitamins, Parasitism and sexual cycle. Growth 8, 51—58 (1944). — HERLANT-MEEWIS, H.: Contribution à l'étude de la régénération chez les Oligochètes. Reconstitution du germe chez *Lumbricillus lineatus* (Enchytraeides). I. Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 77, 5—47 (1946 [1]). II. Archives de Biol. 57, 197—306 (1946 [2]). — Étude histologique des *Aeolosomatidae* au cours de la reproduction asexuée. Archives Biol. 65, 73—134 (1954). — HYMAN, L. H.: Lettuce as a Medium for the continuous culture of a variety of small laboratory Animals. Trans. Amer. Microsc. Soc. 60, 365—370 (1941). — JANDA, V.: Über den Bau des regenerierten Geschlechtsapparates bei *Stylaria lacustris*. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 43, 339—360 (1927). — JVANOFF, P. P.: Die Entwicklung der Larvalsegmente bei den Anneliden. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 10, 62—161 (1928). — LIEBMANN, E.: The rôle of chloragogue in regeneration of *Eisenia foetida* (SAV.). J. of Morph. 70, 151—187 (1942₁). — The correlation between sexual reproduction and regeneration in a series of *Oligochaeta*. J. of exper. Zool. 91, 373—389 (1942₂). — New light on Regeneration of *Eisenia foetida* (SAV.). J. of Morph. 73, 583—610 (1943). — MAUPAS, E.: Sur la multiplication agame de quelques Métazoaires inférieurs. C. r. Acad. Sci. Paris 109, 270—273 (1889). — Expériences sur la reproduction asexuelle des Oligochètes. Bull. biol. France et Belg. 53, 150—160 (1919). — MEHRA, H. R.: The genital Organs of *Stylaria lacustris* with an account of their Development. Quart. J. Microsc. Sci. 68, 147—186 (1924). — PENNERS, A.: Abhängigkeit der Formbildung vom Mesoderm im *Tubifex*-Embryo. Z. wiss. Zool. 150, 305—357 (1938). — PREU, TH.: Bemerkungen zur Histologie der Naiden. Z. wiss. Zool. 149, 258—279 (1937). — Die Wirkung ultravioletter Strahlen auf ausdifferenzierte und embryonale Zellen von *Nais communis*. Z. wiss. Zool. 150, 404—450 (1938). — RAHM, E.: Die Einwirkung der Radiumstrahlen auf die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Naiden. Z. wiss. Zool. 145, 113—168 (1934). — STÉPHAN-DUBOIS, F.: Phénomènes de migration dans la régénération de *Tubifex tubifex* et de *Lumbriculus variegatus* (Oligochètes). C. r. Soc. biol. Paris 146, 1127 bis 1131 (1952). — STOLTE, H.-A.: Untersuchungen über experimentell bewirkte Sexualität bei Naiden. Biol. Zbl. 41, 535—557 (1921). — Experimentelle Untersuchungen über die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Naiden. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 39, 149—194 (1922). — Studien zur Histologie des Altersprozesses. Z. wiss. Zool. 129, 1—47 (1927). — Die Herkunft des Regenerations-

materials in der Teilungszone von *Dero limosa* LEIDY und das Problem der Aktivierung dieser Zellen. Blastocytenstudien I. Z. wiss. Zool. **143**, 155—200 (1933 [1]). — Über die zelluläre Grundlage geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzung bei *Stylaria lacustris* L. Blastocytenstudien II. Verh. dtsh. zool. Ges. **1933** [2], 104—112. — Über „selektive“ Eibildung bei *Stylaria lacustris* L. Blastocytenstudien III. Z. wiss. Zool. **145**, 79—98 (1934). — Erscheinungsform und Bedeutung totipotenter Körperzellen (Blastocyten) bei wirbellosen Tieren. Blastocytenstudien IV. Biol. Zbl. **55**, 634—660 (1935). — Gestaltung, Zeichnung und Organabbau unter dem Einfluß normaler und „alternder“ Gonaden bei *Polypophthalmus pictus* DUJ. (*Polychaeta*). Z. wiss. Zool. **150**, 107—154 (1937). — BRONNS Klassen und Ordnungen des Tierreiches, *Oligochaeta*, V. Liefg., Ungeschlechtliche Fortpflanzung und Regeneration. Leipzig 1955, 126 S.

Prof. Dr. H.-A. STOLTE, Tübingen, Hölderlinstr. 12



Büchling

Zum 70. Geburtstag von Paul Buchner

Am 12. April vollendet Prof. Dr. PAUL BUCHNER, der Altherausgeber der Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere, auf der Insel Ischia sein 70. Lebensjahr. Er wurde am 12. April 1886 als Sohn des Sanitätsrates Dr. WILHELM BUCHNER in Nürnberg geboren. Sein Vater war ein hervorragender Kenner der heimatlichen wie der Mittelmeerflora; so wuchs der junge PAUL BUCHNER in engster Berührung mit naturwissenschaftlicher Forschung auf und bezog 1905 die Universität Würzburg mit der Absicht, Botaniker zu werden. Doch die Vorlesungen von BOVERI, SOBOTTA und STÖHR lenkten sein Interesse stärker auf die Zoologie; er ging im folgenden Jahre an das HERTWIGSche Institut nach München und promovierte 1909 bei RICHARD GOLDSCHMIDT. Die ersten Jahre wissenschaftlichen Wirkens — als Akademiestipendiat an der Zoologischen Station Neapel und ab 1910 als Assistent am Münchener Zoologischen Institut — galten vorwiegend cytologischen Fragen. Von diesen war es nur ein kleiner Schritt zu Studien an intracellulären Symbionten, über die er am 13. Juni 1911 erstmalig in der „Gesellschaft für Morphologie und Physiologie“ in München berichtete. Dieses Gebiet der Symbiose zwischen Tier und Pflanze ließ BUCHNER nie mehr los; er baute es im Laufe seines Lebens zu einem imposanten Forschungsgebiet aus, das seine Ausstrahlungen auf zahlreiche andere Disziplinen hatte und ständig weiter haben wird. Ein beredtes Zeugnis davon legt besonders die Wandlung seines in drei Auflagen erschienenen „Symbiosewerkes“ ab.

1923 folgte er einem Ruf nach Greifswald, 1927 nach Breslau, 1934 nach Leipzig. Einen Ruf auf den Münchener Lehrstuhl 1946 nahm er der Nachkriegsverhältnisse wegen nicht an. Im Jahre 1927 legte er den Grundstein zu seinem idyllischen Besitztum auf Ischia; dort wurde er 1943 durch den Krieg abgeschnitten und wohnt seit diesem Zeitpunkt — in zunächst sehr bitteren, dann sich allmählich bessernden Zeiten — ständig auf dieser einzigartigen Insel. Seine künstlerische und auf das Ganze gestellte Natur erweckte in ihm den Plan einer gesamtheitlichen Darstellung der Insel, zu der von ihm schon geologische, zoologische, prähistorische — diese gestützt auf seinen Sohn — und kunsthistorische Beiträge vorliegen. Das Jahr 1954 brachte ihm und seiner Frau, dank des Zusammenwirkens der Regierung von Djakarta und der deutschen Forschungsgemeinschaft, das unvergessliche Erlebnis einer Tropenreise nach Bogor, in das Innere von Java und nach Bali; doch wurde die Reise auch intensiv genutzt zum Sammeln neuen Untersuchungsmaterials.

Herausgeber und Verlag, Kollegen und Schüler, zahlreiche Zoologen der ganzen Welt entbieten dem Jubilar die aufrichtigsten Glück- und Segenswünsche für noch viele Jahre frohen Schaffens.

Die Arbeiten dieses und des nächsten Heftes sind ihm in Verehrung gewidmet.

Aus dem Zoologischen Institut München, Abt.: Paul-Buchner-Institut
für experimentelle Symbiosieforschung

ZÜCHTUNGSVERSUCHE AN DEN SYMBIONTEN
VON *PEDICULUS VESTIMENTI* BURM.,
NEBST PHYSIOLOGISCHEN UND MORPHOLOGISCHEN
BEOBACHTUNGEN*

Von

OTTO PUCHTA**

Mit 32 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. April 1955)

Inhaltsverzeichnis	Seite
A. Einleitung	416
B. Material und Methodik	417
I. Die symbiontischen Einrichtungen der Kleiderlaus	417
II. Die Versuchstiere	417
III. Die Reinzüchtung der Symbionten	418
C. Ergebnisse der Versuche	422
I. Die Morphologie der Symbionten im Mycetom der Laus	422
1. Der Zyklus	423
2. Die Vermehrung	427
3. Die Struktur	428
4. Diskussion der Ergebnisse aus den morphologischen Unter- suchungen	431
II. Züchtungsversuche	434
1. Identitätsbeweise	436
2. Das Verhalten in der Kultur	438
Zusammenfassung	439
Literatur	440

A. Einleitung

Die physiologische Untersuchung kulturell gewonnener symbionti-
scher Mikroorganismen stellt einen Weg dar, auf dem versucht werden
kann, die wesentlichen Wechselbeziehungen zwischen Wirt und Sym-
biont aufzuklären. Derartige Experimente sind von Mitarbeitern KOCHS
(Fink 1952; GRÄBNER 1954; HUBER, unveröffentlicht) bereits mit Er-
folg an verschiedenen Objekten durchgeführt worden. Die Kultivierung
der intracellulären Symbionten eines *blutsaugenden* Insekts ist aber bisher

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

** Herrn Professor Dr. ANTON KOCH sei gedankt für die Anregung zu dieser
Arbeit. Herrn Professor Dr. KARL v. FRISCH danke ich für die Überlassung eines
Arbeitsplatzes, Herrn Professor Dr. HUGO BRAUN für wertvolle Ratschläge.

noch nicht gelungen. Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, die Mycetomsymbionten der Kleiderlaus zu züchten.

B. Material und Methodik

I. Die symbiontischen Einrichtungen der Kleiderlaus

Die symbiontischen Einrichtungen der Kopflaus, *Pediculus capitis* DE GEER, die sich in keiner Weise von denen der Kleiderlaus unterscheiden, wurden von RIES (1931) aufgeklärt:

Das beiden Geschlechtern gemeinsame larvale Mycetom hat die Gestalt einer Linse und liegt dem Darm ventral, ungefähr in der Mitte des Abdomens, flach auf. Es ist unter schwacher Vergrößerung leicht von außen zu sehen. In 10—16 von Syncytien gebildeten Fächern liegen die wurstförmigen Symbionten. Während sich im männlichen Geschlecht hieran — bis auf Veränderungen an den Symbionten selbst — wenig ändert, erfolgt beim Weibchen zu Ende des dritten Larvenstadiums eine Wanderung aller Symbionten durch die Lymphe in die zwei Filialmycetome, die „Ovarialampullen“. Diese stellen den an die Eiröhren angrenzenden, erweiterten Abschnitt der Ovidukte dar und besitzen ein stark erhöhtes Epithel, in dessen Zellen die Symbionten aufgenommen werden. Die Ovarialampulle ist die Übertragungseinrichtung, mittels derer die Symbionten an die Nachkommenschaft weitergegeben werden. Von ihr aus treten Keime in den anal gerichteten Pol der reifen Eizelle ein.

Im Ei wird bald ein embryonales Mycetom gebildet, das zunächst am offenen Ende des Keimstreifs, später — zur Zeit der Anlage der Extremitäten — frei im Dotter liegt. Bei der Umrollung des Embryos verbleibt das embryonale Mycetom im Dotter und kommt in den künftigen Mitteldarmbereich zu liegen. Sobald der Mitteldarm angelegt ist, bildet sich als eine ventrale Ausbuchtung aus ihm das definitive larvale Mycetom, das sich vollständig vom Darm abschnürt, wenn es von den Symbionten aus dem embryonalen Mycetom besiedelt ist. Diese Umsiedlung erfolgt derart, daß das embryonale Mycetom samt den Symbionten sich in die Ausbuchtung hineindrängt, dort die Symbionten entläßt und — jetzt nur noch aus einem Syncytium bestehend — kurz vor der endgültigen Abschnürung des larvalen Mycetoms zurück in das Mitteldarmlumen gepreßt wird, wo es zugrunde geht. Damit ist der Cycclus geschlossen.

Die stärkste Vermehrung der Symbionten von den wenigen hundert, die das Ei infizieren, zu den tausenden, die im larvalen Mycetom und in den Ovarialampullen leben, soll nach RIES im larvalen Mycetom, unmittelbar nach dem Schlüpfen der Larve erfolgen.

II. Die Versuchstiere

Durch freundliche Vermittlung Herrn Dr. R. FINKS konnte ich einen Laboratoriumsstamm von Kleiderläusen aus den Behring-Werken in

Marburg erhalten. Ich hielt die Tiere bei 31° C im Brutschrank, ohne besondere Regelung der Hydratatur. Jeden Morgen wurden sie etwa 30 min lang am Körper gefüttert. Vermehrung und Alter der Tiere waren dabei völlig normal (HASE 1915, 1916, 1916a, 1928; KEILIN und NUTTALL 1919; MÜLLER 1949; SIKORA 1922).

Weitere Einzelheiten in der Haltung sind in einer anderen Arbeit mitgeteilt (PUCHTA, 1955), spielen jedoch in den vorliegenden Untersuchungen keine Rolle.

III. Die Reinzüchtung der Symbionten

Es ist allgemein bekannt, daß intracelluläre Symbionten dem Versuch, sie auf künstlichen Nährböden zu kultivieren, erheblichen, bisher in den meisten Fällen unüberwindlichen Widerstand entgegensetzen. Insbesondere ist bisher noch kein intracellulärer Symbiont eines blutsaugenden Insekts gezüchtet worden. Um wenigstens einen Teil der offenbar vorhandenen grundsätzlichen Schwierigkeiten beurteilen und vielleicht beheben zu können, untersuchte ich zunächst das Verhalten der dem Mycetom entnommenen Symbionten in verschiedenen flüssigen Medien.

Nebenher ergaben sich dabei einige neue Aufschlüsse über die Gestalt und die Struktur der Symbionten, um so mehr, als mir ein Phasenkontrastmikroskop (Zeiss-Winkel) zur Verfügung stand. RIES (1931) hatte nur histologische Schnitte durch das Mycetom betrachtet. Es wurde dadurch möglich, in die vorliegende Arbeit einen Abschnitt über die Morphologie der Symbionten aufzunehmen.

Die Lymphe der Laus hat nach meinen Untersuchungen mit flüssigen Indikatoren (Bromthymolblau, Phenolrot, Kresolrot, Metakresolpurpur, Thymolblau) einen p_H -Wert von 7,4. Auf diesen stellte ich alle verwendeten Lösungen ein, variierte aber des öfteren die Werte im Bereich zwischen 7 und 7,8. Der Wert von 7,4 erwies sich als der beste.

Es ist zwar nicht ohne weiteres sicher, daß in dem Mycetom, dessen p_H -Wert ich nicht bestimmen konnte, genau die gleiche Wasserstoffionenkonzentration herrscht wie in der Lymphe, jedoch wandern die Symbionten des Weibchens bei der Besiedelung der Ovarialampullen durch die Lymphe und müssen also an sie angepaßt sein.

Die Präparation des Mycetoms ist auf folgende Weise möglich: Mit feiner Pinzette und geschliffener Nadel kann man in etwas Flüssigkeit unter einer starken Präparierlupe die Laus ventral so einreißen, daß der Darm mit dem Mycetom heraustritt. Das Mycetom ist eng verwachsen mit einem der Darmwand entstammenden, sehr elastischen Scherengitter langgestreckter Muskelzellen (Abb. 1), die viel zäher sind als die Mycetomwand selbst. Für die meisten Zwecke war es nicht nötig, jedes Restchen dieser Muskulatur zu entfernen. In Zupf- und in Quetsch-

präparaten blieben jedoch — war noch zuviel davon vorhanden — oft sämtliche Symbionten darin hängen. Auch in einem ganz von Resten der Darmwand gereinigten Mycetom sitzen die Symbionten noch erstaunlich fest. Sie sind durch Zerzupfen des Mycetoms nur unvollständig zu entfernen.



Abb. 1. Muscularis des Läusedarms (aus einem Frontalschnitt)

Ein Ergebnis dieser Versuche sei an dieser Stelle schon vorausgenommen: Weder die üblichen physiologischen Salzlösungen noch Bouillon für bakteriologische Zwecke erwiesen sich als geeignet, die Symbionten auch nur einen Tag am Leben zu erhalten. In den meisten Fällen starben sämtliche Symbionten schon innerhalb ungefähr einer Stunde ab. Im einzelnen verwendete ich:

Ringerlösung sowie durch Zugabe von 2—15% destilliertem Wasser verdünnte und auf 95—85% des Volumens eingeeengte Ringerlösungen;

Tyrode- und Lockelösungen und Modifikationen derselben (wie oben);

Seewasser-Glukose nach RESÜHR (1938) in verschiedenen Konzentrationen; gewöhnliche Bouillon und Merck Standard I Nährbouillon.

Nordseewasser mit 0,75% Glucose gab unter den Salzlösungen relativ die besten Ergebnisse, wirkte aber keineswegs befriedigend.

Nun bietet ja das Auffinden eines einem Organismus isotonen Mediums im allgemeinen keine grundsätzlichen Schwierigkeiten. Die Symbionten der Kleiderlaus sind aber darüber hinaus augenscheinlich sehr eng an das viel schwerer zu reproduzierende Ionengleichgewicht im Mycetom angepaßt.

Die Frage, ob die Lymphe irgendwelcher anderer Insekten nicht das geeignetste Medium darstelle, schien mir von zweitrangiger Bedeutung zu sein. Letztes Ziel dieser ganzen Versuchsreihe war die Sammlung von Unterlagen für die Herstellung eines geeigneten Nährbodens für die Läusesymbionten. Hierfür kommt Insektenlymphe kaum in Frage, da sie nicht jederzeit in genügenden Mengen zur Verfügung steht. Immerhin führten Überlegungen über die osmotisch wirksamen Bestandteile einer Lymphe am Ende zum Erfolg:

1. Die osmotischen Verhältnisse in einer Körperflüssigkeit werden nicht nur von Ionen und kleinen Molekülen, sondern auch von großen Molekülen und Kolloiden bestimmt.

2. Da die Laus sich ausschließlich von Blut ernährt, kann ihre Lymphe keine anderen anorganischen Ionen enthalten als das Wirtsblut. Es besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß auch das Ionengleichgewicht in der Lauslymphe dem des Wirtsbluts ähnelt.

Ich versuchte also, ein „Modell“ einer Lymphe herzustellen und wählte dazu Merck Standard I Nährbouillon mit einem verschieden hohen Gehalt an Blutbestandteilen. Die Herstellung erfolgte analog der eines Kochblutagars; ich nenne sie daher Kochblutbouillon. In der besten Modifikation kamen auf 250 ml Bouillon 50 ml frisches, defibriertes Pferdeblut. Die Kochblutbouillon vertrug schonendes fraktioniertes Nachsterilisieren — an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde lang bei 60° — ohne Schaden zu erleiden. In ihr konnte ich die Symbionten in zufriedenstellender Weise morphologisch untersuchen, und sie bildete auch eine gute Grundlage für Zuchtungsmedien.

Als Kulturgefäße gebrauchte ich die sog. Cello-Platten nach KANZ (1948, 1949). Ihr Prinzip sei kurz angegeben:

Der Boden einer Petrischale wird mit einer passend zugeschnittenen Scheibe chemisch reiner Watte belegt, die ihrerseits mit dem flüssigen Nährboden getränkt wird. Darüber wird eine im Nährmedium eingeweichte Cellophanscheibe (Ti-Cellophan Kalle) unter Vermeidung von Luftblasen so gelegt, daß ihr aufgebogener Rand der senkrechten Wand der Petrischale bis kurz unter deren freier Kante anliegt. Da die fertige Platte sterilisiert wird, ist der Deckel zum Auffangen des Kondenswassers mit Filterpapier ausgelegt.

Die Cello-Platte bietet die Möglichkeit, *unter* das Cellophan, also reinlich getrennt von dem *auf* das Cellophan geimpften zu züchtenden Organismus, eine „Amme“ zu impfen.

Das „Ammenphänomen“ besteht darin, daß manche Mikroorganismen besser oder überhaupt erst wachsen, wenn sie sich in unmittelbarer Nachbarschaft bestimmter anderer Mikroorganismen befinden. Diese liefern Stoffwechselprodukte, die jene benötigen, jedoch selbst nicht aus dem Nährboden gewinnen können.

Nach den guten Erfolgen, die FINK (1951) mit dem Ammenverfahren bei der Kultivierung der Symbionten von *Pseudococcus citri* RISSO hatte, verwendete auch ich es. Ich führte es wie folgt aus:

Bei der von mir verwendeten Petrischale mit einem inneren Durchmesser von 8,5 cm und einer Dicke der Watteeinlage von ungefähr 1 cm faßte eine Celloplatte 18 ml Nährmedium. Mit 15 oder 13 ml hiervon tränkte ich die Watte vor dem Autoklavieren. Die restlichen 3 oder 5 ml sterilisierte ich in einem besonderen Röhrchen für jede Platte, wobei ich im Bedarfsfalle die hitzeempfindlicheren Ingredienzen quantitativ hierunter mischte, um sie schonender sterilisieren zu können.

Ich autoklavierte z. B. die Celloplatten mit 15 ml Bouillon und erhitzte eine entsprechende Anzahl von Röhrchen mit je 3 ml eines 10%igen Hefeextraktes an 3 aufeinanderfolgenden Tagen auf 100°.

In den Röhrchen schwemmte ich nach ihrer Sterilisation den Ammenkeim auf und goß das Ganze mit der nötigen Vorsicht unter die mit steriler Pinzette angehobene Cellophanscheibe.

Die Notwendigkeit, die Celloplatten nicht nur zur Beimpfung, sondern auch zur Kontrolle häufiger öffnen zu müssen als normale Agarplatten — wegen der Verkleidung des Deckels —, macht sie anfälliger gegen Fremdinfektionen. Während meiner ersten beiden Versuchsreihen gewann ich den Eindruck, daß die eigentliche Gefahrenquelle nicht die Luft, sondern der Rand des Deckels sei, dessen Berührung mit unsterilen Gegenständen man schlecht völlig vermeiden kann. Ich wischte ihn daher von nun an vor dem Öffnen mit einem sagrotangetränkten Löffchen ab. Der Erfolg bestand darin, daß bei den 520 Platten, die ich von da ab noch herstellte, keine einzige mehr eine Infektion der Plattenmitte erlitt und nur 23 eine Infektion des äußersten Randes, die nichts schadete, weil ich die Symbionten stets genau in die Mitte impfte. Wegen der Schwierigkeit des Identitätsbeweises für in vitro gezüchtete Symbionten schieden diese Platten trotzdem aus dem Versuche aus.

In jeder Versuchsreihe verwendete ich 30—36 Platten, wovon meistens zwei Drittel mit einer „Amme“ beimpft waren.

Es war als sicher vorauszusetzen, daß der Erfolg eines Kultivierungsversuches nicht nur vom Nährboden, sondern auch von der Wahl des geeignetsten physiologischen Zustands der zu verimpfenden Symbionten abhängen werde. Ich wählte erstens Symbionten aus dem Mycetom frisch geschlüpfter Larven und zweitens aus den Eiern verschiedenen Alters. Die „Übertragungsformen“ in den Eiern befinden sich dort im Dotter — also in einer „fremden“ Umgebung, wenn man das Mycetom als ihre eigentliche Wohnstätte betrachtet — und lassen daher erwarten, daß sie sich veränderten Umweltbedingungen relativ gut anpassen können. Hinwiederum wachsen die Symbionten im Mycetom frisch geschlüpfter Larven sehr stark und zeigen damit an, daß ihnen eine

besondere Vitalität innewohnt. Schließlich ist es von praktischer Bedeutung, daß die wirklich sterile Gewinnung der Symbionten am ehesten aus Eiern und frisch geschlüpften Larven möglich ist.

Seitdem bekannt ist, daß in den Tracheen von Insekten Mikroorganismen leben können (STAMMER 1952), muß man die sterile Präparation von Insektenorganen auch bei Beachtung aller möglichen Vorsichtsmaßregeln als ein fragwürdiges Unternehmen bezeichnen, wenn nicht die Möglichkeit einer Tracheeninfektion von vornherein ausgeschlossen ist.

Ich sterilisierte die Läuseeier mitsamt der Unterlage, an der sie hafteten, auf folgende Weise in Chloraminalkohol:

1. Alkohol, 70%ig, 1 sec;
2. Chloramin „Heyden“, 2% in 70%igem Alkohol, 20 sec;
3. Alkohol, 70%ig, zweimal je 1 sec;
4. Leitungswasser, steril, dreimal, insgesamt 1 min;
5. Abtrocknen zwischen sterilem Filterpapier.

Es schlüpften äußerlich sterile Larven, die sicher keine anderen Keime enthielten als ihre Symbionten.

Sollten die Eisybionten verimpft werden, so riß ich ein Ei im desinfizierten Impfkasten unter dem Binokularmikroskop mit Pinzette und Nadel auf, quetschte den ganzen Inhalt in einen sehr kleinen Tropfen Kochblutbouillon und übertrug das Gemisch mit der Platinöse auf den Nährboden.

Zur Verimpfung des Mycetoms frisch geschlüpfter Larven riß ich diese neben einem sehr kleinen Tropfen Kochblutbouillon schnell der Quere nach entzwei, trennte das Mycetom vom Darm und zog es dabei sofort in den Tropfen hinein, mit dem ich es, ganz oder zerrissen, verimpfte.

Die Eiinhalte und Mycetome versuchte ich stets im Kulturgefäß auf engstem Raume zu verreiben. Da der Erfolg, die Befreiung der Symbionten aus den Mycetomen, aus bereits angeführten Gründen recht unsicher ist, verimpfte ich in einem Versuch immer zwei oder drei Mycetome oder Eier auf eine Stelle. Dies bot gleichzeitig den Vorteil, daß im günstigsten Falle die Symbionten in hoher örtlicher Konzentration auftraten.

C. Ergebnisse der Versuche

I. Die Morphologie der Symbionten im Mycetom der Laus

RIES (1931) gab eine vollständige Darstellung von den zyklischen Formveränderungen der Symbionten von *Pediculus*. Seine an Schnittpreparaten erarbeiteten Ergebnisse kann ich in einigen Punkten ergänzen, da ich die lebenden Symbionten untersuchte.

1. Der Zyklus

Die Symbionten aus der Magenscheibe der *frisch geschlüpften* Larve zeigt Abb. 2. Es sind Kugeln mit einem Durchmesser von ungefähr 2μ , sowie Schläuche, deren Dicke dem Durchmesser der Kugeln entspricht und die bis zu 25 und 30μ lang sind. Formen mit einer kugelförmigen Abschnürung an einem Ende oder mit schlauchförmigen Abschnürungen verschiedener Länge sind häufig. Das Plasma erscheint unter der Phasenkontrastoptik und unter der gewöhnlichen Optik völlig homogen.

Diese Feststellungen stehen im großen ganzen in Einklang mit denen RIES'. Jedoch übersah RIES die Kugeln und die eingeschnürten Formen, die mit größter Wahrscheinlichkeit die Vermehrungsstadien darstellen. An Hand selbstgefertigter Schnitte konnte ich mich davon überzeugen, daß dies auch nicht anders möglich war: Die Kugeln kann man ohne weiteres für Querschnitte von Schläuchen halten, und ob in einem gegebenen Falle ein Symbiont sich von dem Mutterindividuum abschnürt oder nur einen anderen zufällig berührt, ist erst dann zu entscheiden, wenn die Organismen in einer Aufschwemmung lebend betrachtet werden und ihre Stellung zueinander dauernd ändern (passiv).

Im *zweiten* Larvenstadium beider Geschlechter sind die Symbionten wesentlich länger geworden; sie erreichen etwa 50μ . Es kommen aber daneben noch häufig Kugeln und kurze Formen vor — wie überhaupt in allen Lebensstadien des Wirts —, so daß mit einer Vermehrung weiterhin gerechnet werden muß. Die in die Abb. 3 aufgenommene geweihartige Form ist die einzige ihrer Art, die in Präparaten aus einer Vielzahl von Larven dieses Stadiums erschien. Sie muß für eine zufällige Entartungserscheinung gehalten werden. Auch in anderen Stadien — und auch bei den Kultursymbionten — kommen gelegentlich verzweigte Individuen vor.

Auf Schnittpräparaten ist weder von einem Längenwachstum, noch von Verzweigungen etwas zu erkennen, da die Symbionten sehr verknäuelte liegen.

Die Symbionten aus der Magenscheibe einer weiblichen Larve im *dritten* Larvenstadium gleichen weitgehend denen des ersten Larvenstadiums. Im dritten Stadium beginnt ein an das Geschlecht des Wirts gebundener Dimorphismus der Symbionten. Es seien zunächst die Verhältnisse im *weiblichen* Geschlecht weiter verfolgt:

Die Symbionten in den Ampullen frisch geschlüpfter und älterer Weibchen gleichen denen weiblicher Larven im dritten Stadium. Von hier aus ist der Anschluß an die Formen der Embryonensymbionten unmittelbar gegeben.

In frisch gelegten Eiern gleichen die Symbionten zunächst denen aus den Ovarialampullen. Noch am ersten Tage nach der Eiablage setzt

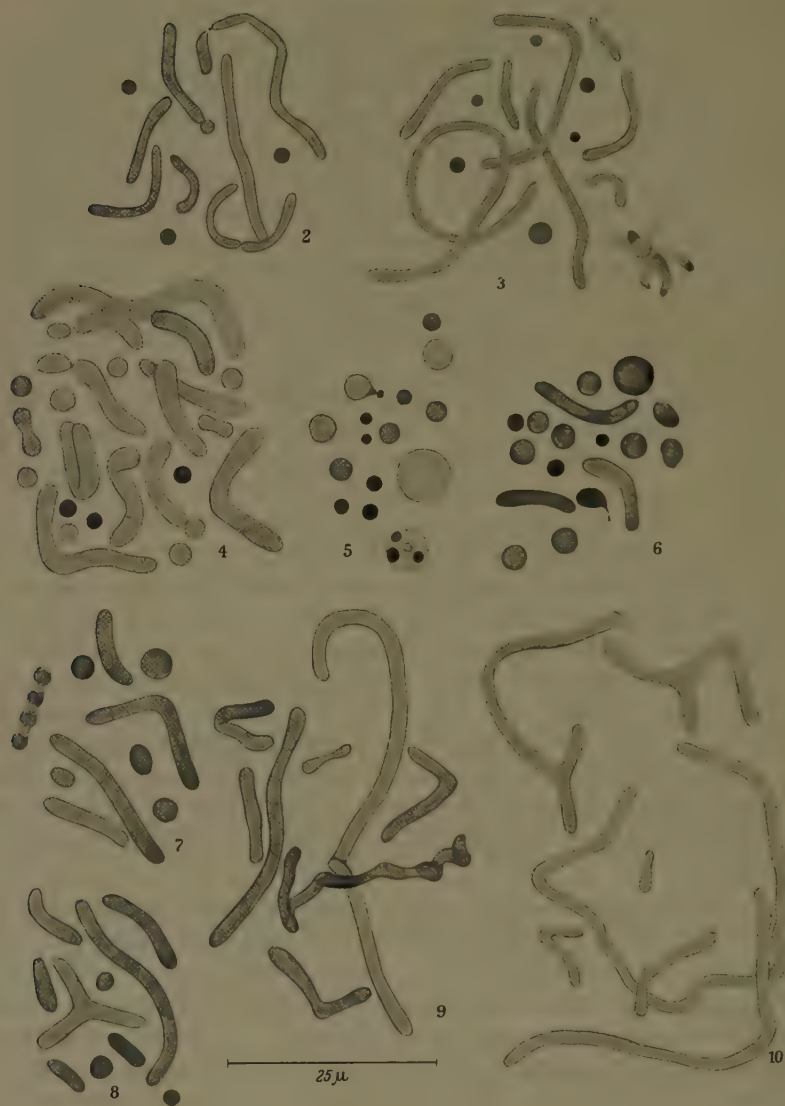


Abb. 2—10

aber eine Tendenz zur Bildung von kürzeren Formen, Kugeln und hantelartigen Gebilden ein. Abb. 4 zeigt Symbiontenformen aus diesem Stadium.

Am zweiten Tage nach der Eiablage sind im embryonalen Mycetom nur runde Formen zu finden, darunter selten hell erscheinende,

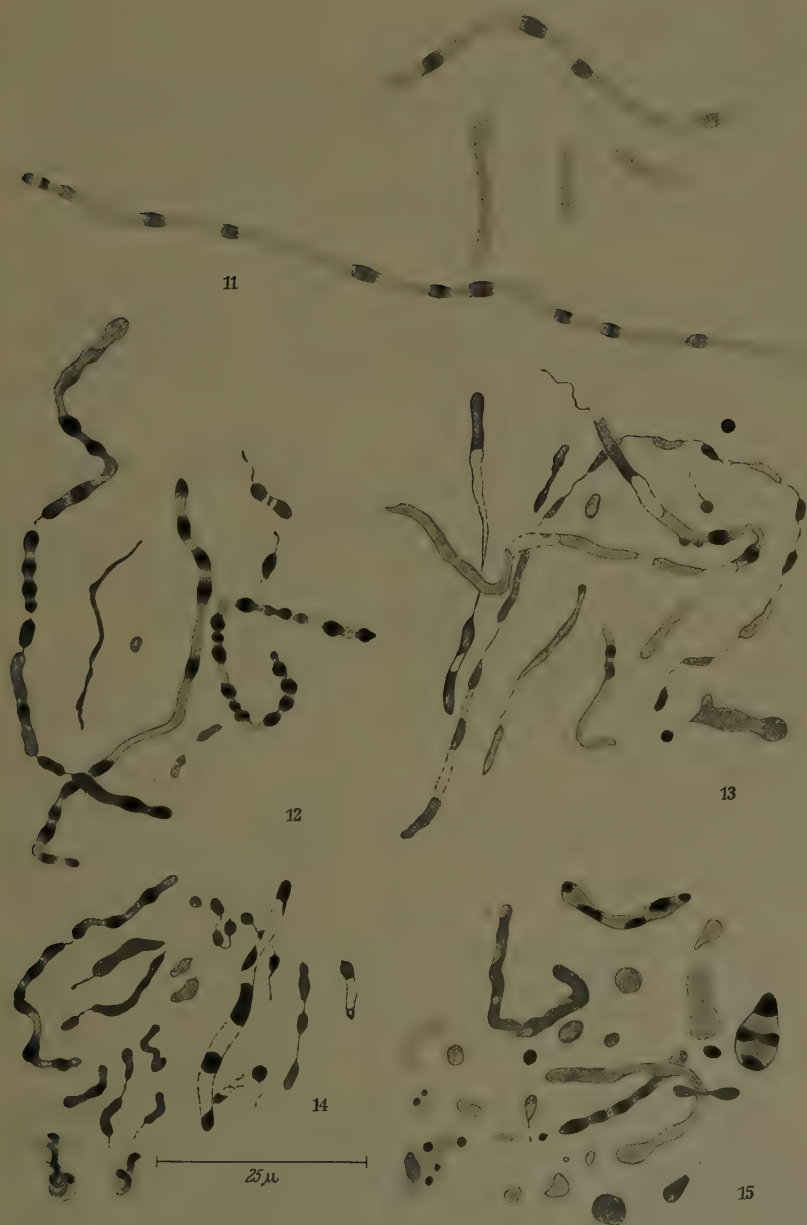


Abb. 11—15

Abb. 2—15. Die Formveränderungen der Mycetomsymbionten. 2. Frisch geschlüpfte Larve, 3. 2. Larvenstadium. 4. 1 Tag altes Ei. 5. 2 Tage altes Ei. 6. 3 Tage altes Ei. 7. 4 Tage altes Ei. 8. 5 Tage altes Ei. 9. Männliche Larve im 3. Stadium. 10. Frisch gehäutetes Männchen. 11. 2—4 Tage altes Männchen. 12. 5—9 Tage altes Männchen. 13 und 14. 10—16 Tage altes Männchen, 15. 17 und mehr Tage altes Männchen

homogene Kugeln mit wenigen großen, dunklen Brocken von Kugelform (Abb. 5).

Am dritten Tage, an dem das Mycetom nahe dem Keimstreifende frei im Dotter liegt, setzt bereits wieder die Bildung von Schlauchformen ein, jedoch sind die Kugeln noch in der Überzahl (Abb. 6).

Am vierten Tage liegt das embryonale Mycetom im künftigen Mitteldarmbereich. Die Symbionten tendieren weiterhin zur Bildung von Schläuchen (Abb. 7).

Am fünften Tage endlich (Abb. 8), an dem schon das larvale Mycetom besiedelt ist, haben die Symbionten ihre normale Schlauchform erreicht, wie sie sie, nur unter Veränderung ihrer Länge, beibehalten, bis die geschlechtsgebundenen Abwandlungen ihrer Gestalt einsetzen.

Das Plasma der Symbionten der weiblichen Laus ist in allen Stadien homogen, mit jener einzigen Ausnahme am zweiten Tag der Eientwicklung. Symbionten mit schaumigem oder wabigem Plasma, wie RIES sie in fixiertem Material sah, sind bei Lebendbeobachtung nie zu finden. Bedingung ist allerdings ein geeignetes Medium (s. S. 419).

Im männlichen Geschlecht des Wirts verläuft die Gestaltsänderung der Symbionten ganz anders. Aber noch viel weniger als beim Weibchen ist es hier möglich, sich aus Schnitten ein Urteil zu bilden.

Im dritten Larvenstadium schon setzt bei den Männchen ein weiteres Längenwachstum der Symbionten ein (Abb. 9), das bei den frisch gehäuteten Männchen noch auffälliger wird (Abb. 10). Am ersten Imaginaltage ist das Plasma der Symbionten noch durchaus homogen.

Das ändert sich zwischen dem zweiten und vierten Imaginaltag, wobei innerhalb dieser zeitlichen Grenzen erhebliche individuelle Unterschiede von Männchen zu Männchen vorkommen. Die weiter in die Länge gewachsenen Symbionten — 100 μ und darüber sind keine Seltenheit — beginnen dunklere Verdickungen, Knoten, zu bilden (Abb. 11).

Zwischen dem fünften und neunten Imaginaltag beginnen die Schläuche sich zwischen den Knoten durchzuzschnüren. Die Teilstücke hängen oft noch über einen dünnen, manchmal granulierten Faden zusammen, der von den leeren oder fast leeren Membranen gebildet wird (Abb. 12).

Zwischen dem 10. und 16. Imaginaltag schreiten die Zerfallserscheinungen fort und es kommen dazu noch Auflösungen in den Schläuchen selbst, die zum Sichtbarwerden vieler leerer Hüllen führen (Abb. 13 und 14). In insgesamt nur 2 Fällen beobachtete ich dünne, gewundene Schläuche, die in einer homogen gefüllten Blase eingeschlossen lagen (Abb. 14, links unten). Gegen Ende dieser Periode beginnt die Bildung ganz abweichend gestalteter Individuen, wie sie selten schon früher vorkommen (Abb. 13, rechts unten).

Vom 17. Imaginaltag an ist die Umformung der Symbionten-schläuche zu regellosen Formen in vollem Flusse (Abb. 15).

In Männchen, die während des Absterbens präpariert wurden, fanden sich außer den bekannten Formen auch einzelne Symbiontenindividuen mit granuliertem Plasma, das dem der Symbionten ähnelte, die in einem ungeeigneten Medium abstarben. Außerdem konnten Formen beobachtet werden, die denen der Kultursymbionten glichen. Sie waren in einer Anzahl von 25—30 Stück in jedem Präparat — von insgesamt 6 — vorhanden (Abb. 16, S. 429).

Auch bei den Symbionten des männlichen Geschlechts kommt schaumiges oder wabiges Plasma bis auf die erwähnte Ausnahme (Abb. 16) nicht vor. Es kann sich bei den von RIES beobachteten Erscheinungen dieser Art nur um Fixierungsartefakte handeln.

2. Die Vermehrung

Um über die Vermehrungsweise der Symbionten im Wirt einige Auskünfte zu erhalten, versuchte ich die Symbionten nach Formenklassen geordnet in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Laus auszuzählen.

Tabelle 1

Altersstadium der Laus	Kugeln und Ovoide Länge < 2 × Dicke	Absolute Zahl aller
Ei, 0—12 Std nach der Ablage	wechselnd, doch < 50 %	200
Ei, 12—24 Std nach der Ablage	100 %	2000
Ei, 24—48 Std nach der Ablage	100 %	
Ei, 2—3 Tage nach der Ablage, Keimstreifstadium	90 %	
Ei, 3—4 Tage nach der Ablage, Gliedermaßen angelegt	50 %	
Ei, 4—5 Tage nach der Ablage	40 %	
Ei, 5—6 Tage nach der Ablage, larvales Mycetom besiedelt	30 %	3000
Ei, 6—7 Tage nach der Ablage, schlüpfreif . . .	20 %	
Larve, frisch geschlüpft	10 %	4000

Der nicht in der Tabelle angeführte restliche Teil der Symbionten bestand aus Schläuchen, deren Länge größer war als die doppelte Dicke. Die Zahlen wurden durch Auszählen der Symbionten von je 5—10 Individuen eines Stadiums gewonnen. Die Fehler, die bei der Auszählung eines Quetschpräparates von Eiern oder Mycetomen der Laus gemacht werden, sind ziemlich groß. Es bleiben immer Symbionten im Mycetom und zwischen Dotterschollen versteckt. Besonders hoch ist der Prozentsatz der im Mycetom hängenbleibenden Symbionten einzuschätzen. Ich habe daher nur runde Zahlen in die Tabelle aufgenommen, um nicht

den Anschein einer Genauigkeit hervorzurufen, die ich nicht erreichen konnte. Die Zahlen geben jedoch einen zuverlässigen Eindruck von den tatsächlichen Verhältnissen.

Vor allem wird deutlich, daß die hauptsächlichste Vermehrung — zwar nicht der Masse, aber der Zahl nach — im frühesten Eistadium erfolgt, wo sich durch schnellen Zerfall der Übertragungsformen aus den Ovarialampullen die kugelförmigen Individuen des 1—2 Tage alten Eies bilden. Später erfolgt zwar auch noch eine Vermehrung, jedoch viel mehr Wachstum der einzelnen Individuen in die Länge.

Diese eigenartige Erscheinung der sprunghaften Vermehrung der Organismen bald nachdem sie in ein neues Milieu verpflanzt wurden, erinnert den Beobachter zwangsläufig an einen Vorgang des Zerfalls, wie er bei Konjugaten vorkommt. Bringt man z. B. *Spirogyra*, eine konjugate Fadenalge mit zylindrischen Zellen, vom natürlichen Fundort nach Hause und läßt sie dort in wenig Wasser stehen, so zerfallen — wie ich selbst beobachten konnte — die Fäden schon nach mehreren Stunden oder wenigen Tagen in die einzelnen Zellen. Grund hierfür ist eine Verschlechterung der Lebensbedingungen und der ganze Vorgang stellt keine echte Vermehrung dar. Verbessert man aber das Milieu wieder — durch Zugabe einer genügenden Menge für Algen geeigneten Aquarienwassers —, so sind die einzelnen Zellen fähig, durch Querteilung und Wachstum die ursprüngliche Fadenform zu regenerieren. Das Endergebnis ist also in diesem Falle doch eine Vermehrung der Zahl der Fäden. Ein Versuch, diese äußerliche Übereinstimmung der beiden Vorgänge zu deuten, erfolgt etwas weiter unten (S. 433).

3. Die Struktur

Wie schon erwähnt, ist das Plasma der Mycetomsymbionten mit unerheblichen Ausnahmen völlig homogen. Im homogenen Plasma sind keinerlei Einschlüsse zu erkennen, weder unter der gewöhnlichen Optik, noch unter dem Phasenkontrastmikroskop. Granulationen, die im Schnitt- und Ausstrichpräparat bei Färbung mit verschiedenen Farbstoffen (Eisenhämatoxylin, Giemsa, Methylenblau, Gentianaviolett) auftreten, müssen als Kunstprodukte gelten. Sie entsprechen in Größe und Anordnung jenen Granula, die als Folge grober Entmischungsvorgänge bei Lebendbeobachtung in ungeeigneten Medien sichtbar werden (siehe Abb. 21ff., S. 429).

In ein stark hypotonisches Medium verbracht — z. B. Nordseewasser mit Aqua destillata im Verhältnis 1:1 verdünnt und mit 0,5% Glukose versetzt —, beginnen die Symbionten alsbald zu quellen (Abb. 21). Sie nehmen entweder gleichmäßig an Dicke zu oder bilden — häufiger — an einem Ende oder einer beliebigen anderen Stelle eine Blase, die unter der Phasenkontrastoptik homogen hell erscheint. Das Endstadium ist in jedem Falle eine Kugel. Jede Blase nimmt ihren Anfang mit einer

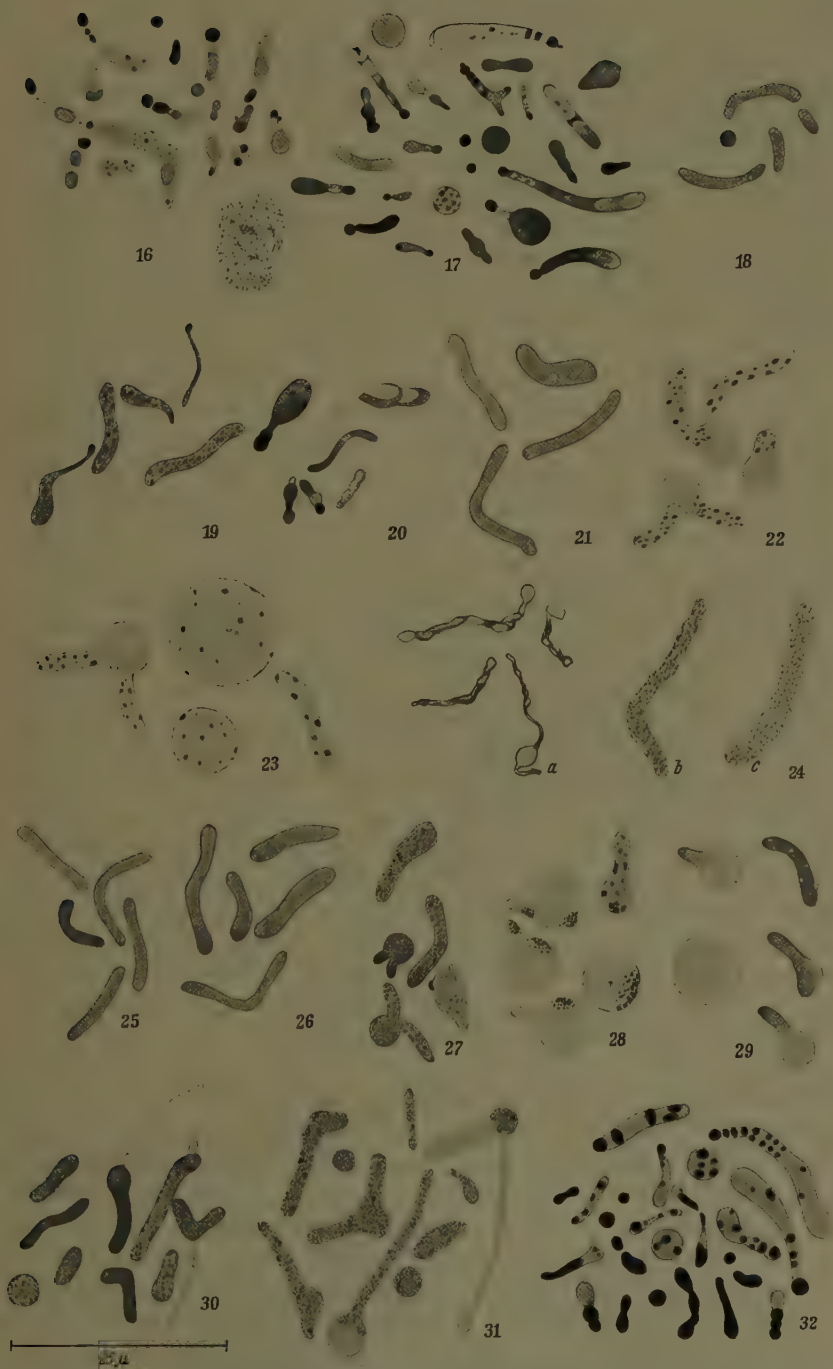


Abb. 16—32. 16 Diphtheroide Formen aus absterbenden Männchen. 17 Lebendpräparat der Erstkultur. 18—20 Umwandlung von Mycetomysymbionten in diphtheroide Formen. 21—23 Mycetomysymbionten in hypotonischem Medium. 24 Mycetomysymbionten in hypertonischem Medium. 25—29 Mycetomysymbionten in ungefähr isotonischem Medium. 30 u. 31. Mycetomysymbionten nach 48 Std in Kochblutbouillon. 32 Grampräparat von Kultursymbionten

Randvakuole, die als Kalotte weiterwächst. Die auftretenden Granula deuten auf Entmischungerscheinungen hin; sie sind grob und unregelmäßig geformt. Wenn die Quellung weit genug fortgeschritten ist (Abb. 23), beginnen die Granula in den Kugeln der BROWNSchen Molekularbewegung zu folgen. Jetzt ist die lebende Struktur endgültig zerfallen. Die Quellung in diesem Medium verläuft zeitlich sehr schnell; Abb. 21 zeigt die Symbionten unmittelbar nach der Präparation; das Individuum oben in der Mitte zeigt bereits 2 Vakuolen und Dickenzunahme. Abb. 22 stellt dieselbe Gruppe nach 2 Std, Abb. 23 nach 20 Std dar.

In einem stark hypertonischen Medium — Nordseewasser mit 1,5% Glukose — schrumpfen die Symbionten ohne Plasmolyse. Der Vorgang erinnert sehr an die Bildung der Stechapfelform bei Erythrozyten und läßt auf das Vorhandensein einer im Grunde ähnlichen Membran schließen. Schon nach wenigen Minuten wird bei einigen Individuen — nach etwa 1 Std bei allen — die Schrumpfung rückgängig gemacht: sie quellen zur ursprünglichen Dicke und darüber hinaus (Abb. 24). Dabei ist keine Blasenbildung zu beobachten, wie sie in hypotonischem Medium immer auftritt. Der Vorgang führt zu feingranulierten Schläuchen, die immer dicker und schließlich kugelig werden.

Ein ungefähr isotonisches Medium — Nordseewasser mit 0,75% Glukose — bringt die Symbionten zu langsamer Quellung (Abb. 26). Die granuläre Entmischung beginnt hier später als in stark hypo- oder hypertonischen Lösungen. Die auftretenden Granula sind kleiner und dichter gelagert. Abb. 25 zeigt eine Gruppe von Symbionten unmittelbar nach der Präparation, Abb. 26 dieselbe Gruppe nach 3 Std, Abb. 27 nach 6 Std und Abb. 28 nach 36 Std. Nach ungefähr 48 Std ist das gleiche Endstadium erreicht wie in Abb. 23: die Molekularbewegung hat begonnen. In Abb. 29 ist ein einzelner Symbiont mit atypischem Quellungsverlauf gezeichnet. Die zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Phasen betragen je 5 min. Hier verlief die Quellung so rasch, daß zunächst keine Zeit zu Entmischungsvorgängen blieb. Diese setzten erst später ein.

Die besten Ergebnisse lieferte Kochblutbouillon (Abb. 30 und 31). Während in allen anderen Medien schon nach spätestens 5—6 Std alle Symbionten deutliche Quellungs- oder Entmischungerscheinungen zeigten, behielten in diesem Medium die meisten Individuen ihre ursprüngliche Gestalt, begannen jedoch nach einiger Zeit trotzdem Granula zu bilden. Die Granula waren feiner als in anderen Medien. In den meisten Präparaten behielt eine kleine Anzahl von Individuen Form und Struktur 4—5 Tage lang bei, blieb also homogen.

In diesem Medium trat nur noch selten Blasenbildung auf und dann erst nach mindestens 48 Std (Abb. 31). Häufiger war die Entstehung

von sehr dünnen Protuberanzen zu beobachten, wie sie auch von Erythrozyten in Bouillon bekannt ist (Abb. 30). Sie setzte ebenfalls nach ungefähr 48 Std ein. Abb. 2, S. 424 stellt eine Gruppe von Symbionten unmittelbar nach der Präparation dar, Abb. 31 im wesentlichen die gleiche Gruppe nach 48 Std; Abb. 30 zeigt ein anderes Präparat, ebenfalls 48 Std nach der Präparation.

Alle Struktur- und Formveränderungen in den verschiedenen Medien verliefen an Symbionten aus den verschiedenen Altersstadien der Laus grundsätzlich gleich. In die hierauf bezüglichen Abbildungen sind daher nur Symbionten aus frisch geschlüpften Larven aufgenommen. Im Mycetom kommen Abweichungen von der typischen Form und der normalen Struktur nur in den bereits erwähnten Ausnahmen vor. Sie dürfen auch dort als eine Verfallserscheinung aufgefaßt werden.

4. Diskussion der Ergebnisse aus den morphologischen Untersuchungen

a) Die Blasenbildung der Mycetomsymbionten in hypo- oder isotonischem Medium ist als eine Plasmoptyse zu betrachten, wie sie an Bakterien wohlbekannt ist. Freilich ist es nötig, den Begriff der Plasmoptyse hierbei in seinem weitesten Sinne zu begreifen, denn von einem eigentlichen „Ausspucken“ des Zellinhalts kann keine Rede sein: Die Membran bleibt geschlossen und es wird lediglich ein zunehmender Teil des Zellinhalts in die geschlossene Blase abgegeben. Nach dem optischen Verhalten der Blasen (s. Abb. 22, 28, 29, 31) ist man geneigt, als wichtigste Ursache ihrer Aufblähung eine veränderte Permeabilität der Symbiontenmembran an der betreffenden Stelle anzunehmen, wodurch dort mehr Außenmedium eindiffundieren kann als an der übrigen Zellperipherie. Die wichtigsten Stützen für diese Auffassung sind erstens das Auftreten der feinen Protuberanzen in isotonischer Kochblutbouillon und zweitens die Tatsache, daß in hypertotonischer Lösung nach einiger Zeit Quellung ohne Blasenbildung erfolgt.

Protuberanzen, wie sie an den Symbionten der Laus auftreten, sind meines Wissens an Bakterien bisher nicht beobachtet worden. An Erythrozyten kommen sie in Bouillon vor, in der sie Stechapfelform annehmen. In isotoner oder gar hypertoner Umgebung (Stechapfelform) besteht aber zunächst gar kein Anlaß zu einer Plasmoptyse, da kein Überdruck in der Zelle besteht. Nimmt man jedoch an, daß eine örtliche Verstärkung der Permeabilität der Membran erfolgt, oder in manchen Fällen vielleicht schon von Beginn an besteht, so lassen sich die Erscheinungen leicht erklären:

Wo die Membran durchlässiger ist, kann sie von Stoffen passiert werden, die das darunter liegende Plasma schädigen. Dabei können Kolloide und sonstige bisher an die lebende Struktur gebundene, also osmotisch unwirksame Moleküle frei werden. Erst jetzt kann in der

Zelle ein örtlicher osmotischer Überdruck auch gegenüber einem sonst iso- oder hypertonischem Medium entstehen, der zum Eindiffundieren von Lösungsmittel aus demselben und also zur Aufblähung der Blase oder der Protuberanz führt. Ist die Zelle im übrigen noch intakt, so kann sie gegenüber der nekrotischen Stelle eine neue Haptogenmembran aufbauen und so einen Totalschaden vermeiden.

Haptogenmembranen werden in lebenden Zellen häufig ausgebildet. Es sei nur an die Nahrungsvakuolen und kontraktilen Vakuolen der Protozoen erinnert.

Bei Annahme dieser Erklärung bliebe nur noch der Grund für den örtlichen Unterschied in der Permeabilität zu finden. Dieser braucht durchaus nicht in allen Fällen derselbe zu sein:

Die Blasenbildung in hypotonischem Medium tritt vorwiegend an den Enden der Schläuche auf, wo diese wachsen und deshalb eine noch nicht stabilisierte, vielleicht auch dehnbare Membran besitzen. Da die Schläuche sich offenbar manchmal querteilen, wobei die Membran sicher — wie bei anderen Zellteilungen auch — vorbereitende Strukturveränderungen erfährt, wäre auch die Entstehung der Blasen inmitten von Schläuchen erklärbar: Sie müßte da erfolgen, wo eine Teilung bevorstand (s. auch BISSET 1951).

Die feinen Protuberanzen hingegen lassen sich als Auswirkung einer örtlichen chemischen Reaktion der Membran — vielleicht als Folge eines nicht geeigneten Ionengleichgewichts im Außenmedium — verstehen. Von hier aus aber ist die Verbindung geknüpft zu dem Verhalten der Symbionten in hypertonischem Medium: Dort wird durch die starke Schrumpfung die Membran, und damit auch das darunter liegende Plasma, überall ungefähr gleich stark geschädigt, so daß durch eine ganz allgemeine Auflockerung des Plasmagefüges der kolloidosmotische Druck im Innern der Zelle zusammen mit dem schon vorhandenen salzosmotischen genügt, um den Druck des Außenmediums an der ganzen Peripherie zu übertreffen.

b) Aus den Plasmoptysevorgängen und aus dem Auftreten leerer Hüllen in den Mycetomen der Männchen kann auf die Beschaffenheit der Symbiontenmembran geschlossen werden. Sie kann nur eine lebende Plasmamembran sein, von der ungefähren Beschaffenheit der Membran der Erythrozyten.

c) Die interessantesten Gestaltsänderungen der Mycetomsymbionten im Verlauf des individuellen Lebens des Wirts treten bei den Männchen auf. Sie beginnen, wenn die Gonaden heranreifen, also im dritten Larvenstadium. Eine Einwirkung der Geschlechtshormone darf daher wohl vermutet werden. Die Formveränderungen der Symbionten deuten zunächst keineswegs auf eine irreversible Degeneration hin. Die knotigen Stadien in jungen Männchen gleichen fast völlig denen, die bei Em-

bryonen auftreten und dort die synchrone Teilung eines Schlauches in mehrere Kugeln anzeigen — sie sind nur länger. In diesem Stadium gewinnt man den Eindruck, daß der Symbiont der Kontrolle des Wirts zu entgleiten droht und Wachstum und Vermehrung überhand nehmen. Angesichts der Tatsache, daß das Männchen um diese Zeit die Symbionten gar nicht mehr benötigt (ASCHNER und RIES 1933; PUCHTA 1955) und ihnen die produzierten Wuchsstoffe vielleicht nicht mehr abnimmt, könnte man in diesem Florieren auch den Erfolg einer Selbststimulierung sehen. GRÄBNER (1954) stellte an Symbionten von Anobiiden eindeutig fest, daß sie die von ihnen produzierten Wuchsstoffe auch selbst benötigen.

Die Periode des Überwucherns der Symbionten währt nicht lange. Bald schon treten die ersten leeren Membranen auf, welche andeuten, daß die Symbionten jetzt immer stärker geschädigt werden. Der Wirt beginnt also seiner Symbionten wieder Herr zu werden. Als Grund hierfür wären zwei Möglichkeiten zur Diskussion zu stellen:

Erstens kann es sein, daß der Wirt jetzt mehr Abwehrstoffe produziert oder den Symbionten aus irgendeinem sonstigen Grunde schlechtere Lebensbedingungen bietet (Veränderungen des Stoffwechsels beim geschlechtsreifen Tier?).

Zweitens aber können die Symbionten selbst, so wie sie sich zuerst selbst zu exzessivem Wachstum angeregt haben mögen, gerade durch ihr Überwuchern irgendeinen Minimumnährstoff so sehr aufgebraucht haben, daß der Wirt nicht mehr schnell genug für Nachschub sorgen kann, oder sie können an ihren eigenen Stoffwechselprodukten — vielleicht sogar denselben, die sie in geringerer Konzentration zum Wachstum angeregt hatten — zugrunde gehen. Daß Vitamine je nach ihrer Konzentration eine grundsätzlich verschiedene Wirkung haben können, ist wohlbekannt und wird durch eigene Ergebnisse (PUCHTA 1955) an der Laus bestätigt.

d) Ich hatte bereits auf die äußerliche Ähnlichkeit zwischen dem Zerfall der Symbiontenschläuche und der Fäden von *Spirogyra* hingewiesen (S. 428). Vielleicht geht diese Übereinstimmung doch etwas tiefer. Die Symbionten der Laus sind möglicherweise an das intrazelluläre Leben, das sie fast während ihres ganzen Daseins führen, besser angepaßt, als an die Verhältnisse im Dotter, wo sie nur 1 bis höchstens 2 Tage frei verweilen. Wenn diese Annahme zutrifft, dann heißt das soviel, daß die Symbionten aus einem guten Milieu — den Zellen der Ovarialampullen — plötzlich in ein schlechteres versetzt werden. Sie zerfallen nun, so wie sich die Algenfäden im analogen Beispiel fragmentieren. Der Vergleich kann aber noch weiter getrieben werden: Schon nach spätestens 2 Tagen werden die Symbionten wieder in ein Syncytium, das des embryonalen Mycetoms, aufgenommen. Und nun gehen sie

wieder in eine lange Schlauchform über. Wachsen sie vielleicht deshalb erneut in die Länge, weil sie sich wieder in ihrem gewohnten Milieu befinden, so wie die einzelnen Spirogyrazellen zu Fäden auswachsen, wenn sie wieder in eine adäquate Umgebung versetzt werden?

e) Der synchrone Zerfall der Symbiontschläuche läßt darauf schließen, daß vorher eine Vermehrung der Kerne oder Kernäquivalente erfolgt sei. Die Schläuche müßten also polyenergid, die Energiden serial angeordnet sein. Färbungsversuche nach ROBINOW (1942) bestätigten diese Annahme. In Symbionten aus dem Mycetom frisch geschlüpfter Larven fanden sich 1—10, seltener noch etwas mehr, distinkt färbbare Einschlüsse. In Kultursymbionten konnte ich bis 7 und 8, meist um 5 Körperchen zählen (s. auch PULVIRENTI 1951).

II. Züchtungsversuche

Auf einer Celloplatte mit Kochblutbouillon als Nährmedium und den Kokken aus dem Läusedarm (ALVERDES und BIELING 1949; VOLLBRECHTSHAUSEN 1953) als „Amme“ erhielt ich eine Kultur pleomorpher Stäbchen und Kugeln, die sich als rein erwies und auf Merck Standard I Nähragar überimpfen ließ. Auf einer zweiten Platte derselben Versuchsreihe fand sich derselbe Keim ein zweites Mal, wieder verimpfbar. Auf zwei weiteren Platten wuchs er so schwach, daß ein Ausstrichpräparat gemacht werden konnte, der Versuch, ihn zu überimpfen, aber erfolglos blieb. Die wichtigsten Daten dieser Versuchsreihe seien angegeben:

Nährboden: Merck Standard I Nährbouillon, 13 ml, in der Platte autoklaviert. Am gleichen Tage, nach Erkalten der Platten, unter das Cellophan zugegeben: 5 ml Kochblutbouillon aus 100 ml defibriniertem Pferdeblut auf 250 ml Bouillon, in Röhrechen zu 5 ml fraktioniert bei 60° nachsterilisiert.

Beimpfung: Am nächsten Tage wurden auf jede Platte die Mycetome zweier frischgeschlüpfter Larven aus äußerlich sterilisierten Eiern geimpft. Es wurde versucht, die Mycetome auf der Platte mit der Nadel zu zerquetschen.

„Amme“: Eine Öse einer Reinkultur des Coccus (auf Merck Standard I Nähragar) wurde in 1 ml der gleichen Kochblutbouillon wie oben aufgeschwemmt und unmittelbar darauf unter das Cellophan gegossen: zur Hälfte der Platten einen Tag *vor* der Zuimpfung der Mycetome, zur Hälfte einen Tag *nach* derselben.

Kontrolle: Sämtliche präparierten Läuse-larven wurden auf insgesamt 6 gleichartig behandelte Celloplatten verimpft. Die beiden Larven, mit deren Mycetomen eine Platte beimpft worden war, kamen auf *einen* Punkt zu liegen; die Abstände dazwischen betrugen 2 cm nach allen Seiten. Die Reihenfolge war durch Farbzeichen am Rande der Platten

kenntlich gemacht, so daß die Zugehörigkeit der Larven zu den mit den Mycetomen beimpften Platten ersichtlich war.

Keine Kontrollplatte zeigte einen Bewuchs.

Bebrütung: Sämtliche Platten wurden vom Tag der Autoklavierung an 7 Tage bei 31° bebrütet. Diese Temperatur hielt ich für günstig, da sie den Läusen sehr zuträglich ist. Auch frei am Wirt lebend, suchen die Läuse nur vorübergehend zum Stich höhere Temperaturen auf.

Da die Celloplatten schnell austrocknen, wurden am 8. Bebrütungstage einer jeden 3 ml abgekochten, filtrierten Leitungswassers unter das Cellophan zugegossen. Von diesem Tage an verblieben die Platten bei Zimmertemperatur.

Anzahl: Ohne die Kontrollen wurden 30 Platten verwendet.

Erfolg: Am 20. und 21. Tage nach der Beimpfung traten auf 4 Platten die Erstkulturen auf. In 2 Fällen waren es mehrere stecknadelkopfgroße, cremefarbene, glatte, runde Kulturen, in 2 weiteren Fällen eine einzige, kaum sichtbare. Alle wuchsen unmittelbar auf der Impfstelle. Das mikroskopische Bild der Erstkulturen zeigt Abb. 17, die nach einem Lebendpräparat hergestellt ist. Alle dunklen Individuen und alle dunkel erscheinenden Stellen in inhomogenen Individuen färben sich nach GRAM (Abb. 32) positiv, alles übrige Plasma negativ. Polkörper, Kapseln oder Sporen sind nicht vorhanden.

Von den Celloplatten übertrug ich den Keim direkt auf Schrägagar Merck Standard I. Hier bildeten die Kulturen einen einheitlichen, etwa 1 mm dicken, eigelben Überzug, der die ganze beimpfte Fläche bedeckte. Die Ränder waren meist etwas erhöht. Sichtbares Wachstum der Kultur zeigte sich vom vierten Tage nach der Beimpfung bis um den achten Tag.

Um die Kulturen auf ihre Reinheit zu prüfen, beimpfte ich Sektorenplatten mit Material von Schrägagar-Röhrchen.

Sektorenplatten sind Agarplatten in Petrischalen, die durch Farbmärken auf dem Glas in drei Sektoren unterteilt sind. Auf den Sektor 1 wird der zu prüfende Keim möglichst dünn verstrichen, dann die Impfnadel ausgeglüht und mit ihr von dem eben beimpften Sektor wieder etwas Material entnommen und im Sektor 2 verstrichen. Der gleiche Prozeß wird noch einmal — von Sektor 2 auf 3 — wiederholt. Zweck der Hantierung ist die stärkstmögliche Verdünnung des Impfmateri als, so daß punktförmige, möglichst von einer Zelle stammende Kulturen, also Reinkulturen, entstehen. Reinkulturen verschiedener, in dem Material etwa vorhanden gewesener Stämme können dabei meist schon grob optisch erkannt werden.

Bei zweimaliger Wiederholung dieser Methode wuchsen immer nur gleichartige Kulturen, so daß der Stamm mit großer Wahrscheinlichkeit als rein zu betrachten war. Weitere Beweise hierfür mußten die weiteren

Passagen des Stammes auf verschiedenen Nährböden ergeben. Hierüber wird etwas weiter unten (S. 438) berichtet.

Der gleiche Organismus — soweit dies nach den morphologischen Kriterien beurteilt werden kann — fand sich späterhin noch fünfmal auf Celloplatten mit Kochblutbouillon, hergestellt wie oben, jedoch ohne „Amme“. In all diesen Fällen waren die Erstkulturen so schwach, daß zwar ein Ausstrich zur Identifizierung gemacht werden konnte, der Versuch der Überimpfung jedoch erfolglos blieb.

Unter 240 Celloplatten mit demselben Nährboden, zum Teil mit, zum Teil ohne „Amme“, ergaben so 9, das sind knapp 3,8%, einen Erfolg. Auf 280 weiteren Platten, mit verschiedenen Modifikationen des Nährbodens, zeigte sich kein Bewuchs. Wiewohl das Züchtungsverfahren somit noch nicht beliebig reproduzierbar ist, gibt es doch einige Beweise für die Identität der gefundenen Keime mit den gesuchten.

1. Identitätsbeweise

a) Der gefundene Keim kommt als Luftkeim im Laboratorium nicht vor. Dies wurde von mir und anderen im gleichen Raum arbeitenden Kollegen durch Exponieren von Schalen mit verschiedenen Nährböden, darunter Kochblutagar und Celloplatten mit Kochblutbouillon, festgestellt.

b) Der Keim stammt sicher nicht von einer Verunreinigung der verwendeten Läuselarven oder der Präparierflüssigkeit, da er sonst irgendwann einmal auf den Kontrollplatten hätte wachsen müssen.

c) Außer dem gefundenen Keim wuchs an keiner Impfstelle jemals irgendein anderer Keim.

d) Der Keim behielt auf jedem Nährboden (Aufzählung weiter unten) und in Bouillon seine typische Gestalt. Er ist also sicher nicht die zufällige Involutionsform eines bekannten Bakteriums.

e) Schon ein oberflächlicher Vergleich der Grundgestalten der Mycetom symbionten und des gezüchteten Keimes zeigt die Übereinstimmung der beiden in dem Punkte, daß es sich um Kugeln und Schläuche handelt. Auch der Größe nach sind Mycetom symbionten und gezüchtete Keime gut vergleichbar (Abb. 18 und 17). Die Abschnürung von Kugeln an den Schlauchenden tritt in ganz gleicher Weise bei beiden zu vergleichenden Keimen auf (Abb. 17 und 2). Neben den Kugeln entsprechen auch die gelegentlich in den Kulturen auftretenden Schläuche mit überall gleichem Durchmesser (Abb. 17 links Mitte) vollständig den normalen Formen der Mycetom symbionten.

f) In Männchen treten kurz vor dem Tode in geringer Anzahl Mycetom symbionten mit Formen auf, die denen der Kultursymbionten gleichen (Abb. 16). Auch die unter dem Phasenkontrastmikroskop erkenntlichen Strukturen entsprechen einander in beiden Fällen.

Waren die bisher angeführten Beweisindizien von mehr indirekter Natur, so kann dies nicht von dem folgenden gelten:

g) Abb. 31 zeigt, daß in Kochblutbouillon die meisten Mycetom-symbionten ihre Form beibehalten und wenige zu quellen beginnen. Das kurze Stäbchen oben in der Mitte und das keulige Individuum rechts haben aber einen kleineren Durchmesser, als er bei frisch präparierten Symbionten jemals vorkommt. Auf diese Beobachtung hin stellte ich serienweise hängende Tropfen aus Kochblutbouillon her, beimpfte sie unter Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln steril mit je einem möglichst stark zerquetschten Mycetom aus frisch geschlüpften Larven und beobachtete in Abständen von einigen Stunden unter der Phasenkontrast-optik. Bei jedem Präparat war eine günstige Stelle markiert. In einem Falle glückte es auf diese Weise, die Umwandlung von Mycetomformen in Kulturformen direkt zu verfolgen. Abb. 18 zeigt eine markierte Gruppe unmittelbar nach der Präparation. Abb. 19 stellt dieselbe Gruppe (zweifelsfrei) am nächsten Tage dar. In Abb. 20, nach weiteren 24 Std gezeichnet, sind nicht mehr nur 5, sondern 6 Individuen zu sehen; es hat also bereits eine Vermehrung stattgefunden. Die Identität mit der Gruppe aus den Abb. 18 und 19 war auch jetzt sicher. Im gleichen Präparat fanden sich noch 54 ähnliche Individuen. Ein Vergleich mit Abb. 17 läßt deutlich erkennen, daß einzelne Organismen in beiden Abbildungen sich auffallend gleichen. Bei der ungewöhnlichen und für eine Bakterienzelle komplizierten und vielfältigen Form braucht man eine derartige Übereinstimmung nicht für einen Zufall zu halten.

Da ich die Identität der Organismen aus dem hängenden Tropfen mit den auf den Celloplatten gewachsenen Keimen auch kulturell nachweisen wollte, verimpfte ich am vierten Tag nach der Präparation den hängenden Tropfen auf eine Celloplatte mit Kochblutbouillon. Es trat kein Wachstum ein.

Die Ursache dafür, daß diese Umwandlung nur in einem einzigen Präparat zu beobachten war, kenne ich nicht. In vielen weiteren Versuchen, besonders mit Larven, deren Alter auf die Stunde genau bekannt war, kam es häufig bis zu dem auf Abb. 19 angegebenen Stadium; aber die Faktoren, welche für eine weitere Umbildung den Ausschlag geben, konnte ich nicht erfassen. Sie sind sehr wahrscheinlich die gleichen, die auch die Schuld daran tragen, daß der Erfolg der Züchtungsversuche auf den Celloplatten so spärlich war. Ganz allgemein läßt sich daraus schließen, daß der verwendete Nährboden noch nicht allen Anforderungen der Symbionten gerecht wurde.

Da ich das Schwergewicht meiner Untersuchungen auf die Fütterungsversuche und die Beobachtung der Symbiontenmorphologie gelegt hatte, überließ ich alle weiteren Versuche zur Auffindung eines optimalen Nährbodens und zur Klärung der Stoffwechselphysiologie der

Symbionten Herrn L. KOTTER, einem anderen Mitarbeiter KOCHS. Ich selbst beschränkte mich darauf, die beiden Stämme zu erhalten und für morphologische Vergleiche mit den Symbionten aus Mycetomen, Ovarialampullen und Eiern zu verwenden.

Bei den routinemäßigen Passagen von einem erschöpften Nährboden auf einen frischen zeigten sich Schwierigkeiten, über die berichtet werden soll, weil sie beweisen, daß der Keim in der Tat anspruchsvoll ist. Es ergaben sich außerdem einige Fingerzeige dafür, in welcher Richtung man einen optimalen Nährboden zu suchen habe.

2. Das Verhalten in der Kultur

Die ersten 3 Passagen auf Merck Standard I Nähragar (MIA) waren reibungslos verlaufen (einmal auf Schrägagar, zweimal auf Sektorplatten). Auch die vierte Passage auf MIA glückte. Beim Versuch einer fünften Passage nach vier Wochen, wiederum auf MIA Schrägagar, ging der Keim auf keinem Röhrchen mehr an. Ähnliche Erscheinungen treten auch bei anderen anspruchsvollen Keimen (z. B. Tuberkelbazillen) auf, wenn sie auf nicht optimalen Nährböden gezüchtet werden. Der Keim bringt jeweils von dem Nährboden, auf dem er zuletzt wuchs, einen Vorrat an Minimumstoffen mit und ist in der Lage, von diesem während einer oder weniger Passagen zu leben. Dabei zehren die weiterlebenden Individuen insbesondere von den Stoffen, welche die absterbenden freigeben.

In meinem speziellen Falle bot ich den beiden Stämmen, die ich gleich behandelte, bei jeder Passage 3—4 neue Nährböden und dazu noch den alten an. Auf irgendeinem davon wuchsen sie in jedem Falle wieder an. Ich beschränke mich darauf, die ausgeführten Passagen aufzuzählen. Sie erfolgten in Abständen von 4 Wochen.

5. Passage: MIA + 2% Hefeextrakt;
6. „ MIA + 2% Glukose;
7. „ MIA + 2% Harnstoff; hier erfolgte erst nach 4 Wochen Wachstum in stecknadelkopfgroßen Kolonien;
8. „ MIA + Hefeextrakt + Glukose;
9. „ MIA + Glukose + 2% Glyzerin;
10. „ Kochblutagar + Hefeextrakt + Glukose;
11. „ Kochblutagar + Hefeextrakt + Glukose;
12. „ MIA (jetzt wieder genügend!);
13. „ MIA + 2% ungehopfte Bierwürze;
14. „ MIA + Hefeextrakt + Bierwürze;
15. „ MIA + Hefeextrakt + Bierwürze;
16. „ MIA + Bierwürze + 2% papainverdautes Kaninchenblut;
17. „ MIA + Bierwürze + papainverdautes Kaninchenblut;
18. „ MIA + papainverdautes Kaninchenblut.

Während aller Passagen veränderte der Keim sein Aussehen nicht wesentlich. Eine genaue Analyse nahm ich nicht vor. Die Kulturen auf glukosehaltigen Nährböden waren etwas schleimiger als die übrigen.

In der 17. und 18. Passage bekamen die Kulturen am unteren Rande einen weißen, 1 mm breiten Saum. Der Ausstrich ergab, daß die dort lebenden Keime denen aus der gelben Zone morphologisch glichen, aber fast rein Gram-positiv waren.

Aus dem Verhalten des Keimes gegenüber den verwendeten Nährböden darf geschlossen werden, daß ein optimaler Nährboden Blutbestandteile, Zucker und Vitamine (wahrscheinlich der wirksame Bestandteil des Hefeextraktes!) enthalten müsse.

Zusammenfassung

1. Die Mycetomsymbionten der Laus sind an die Verhältnisse im Mycetom so eng angepaßt, daß es schwierig ist, eine physiologische Lösung zu finden, in der sie einige Zeit am Leben bleiben oder wenigstens ihre Form nicht verändern. Die besten Resultate ergab bei den vorliegenden Untersuchungen eine Kochblutbouillon.

2. Die Symbionten der weiblichen Laus unterliegen *zyklischen* Formveränderungen zwischen den beiden Extremen einer Kugel und eines Schlauches, der etwa 25mal so lang ist wie der Kugeldurchmesser. Das Verhalten der Symbionten im Embryo ist ein Teil dieses Zyklus.

3. Die Symbionten der männlichen Laus machen *azyklische* Formveränderungen durch. Bis zur Larve im 2. Stadium gleichen sie denen der weiblichen Laus, wachsen dann aber noch weit mehr in die Länge und nehmen schließlich in alten Männchen völlig von der ursprünglichen Kugel- und Schlauchform abweichende Gestalten an. Die diphtheroiden Formen in absterbenden Männchen gleichen denen der reingezüchteten Symbionten.

4. Die stärkste Vermehrung der Symbionten erfolgt durch synchronen Zerfall von Schläuchen in Kugeln während der ersten beiden Tage der Eientwicklung. Auch späterhin vermehren sich die Symbionten noch — besonders durch Abschnürung von Kugeln und kurzen Stücken von Schlauchformen —, jedoch überwiegt jetzt das Längenwachstum.

5. Das Plasma der Symbionten der Larven und Weibchen erscheint völlig homogen. In Eiern und in Männchen kommen Symbionten mit inhomogenem Plasma vor. Sie stellen teils Vermehrungsstadien, teils Degenerationerscheinungen dar.

6. An Symbionten, die in hypotonischem oder ungefähr isotonischem Medium aufgeschwemmt waren, wurden Plasmoptyse und Quellung beobachtet.

7. An Symbionten in Kochblutbouillon traten feine Protuberanzen auf, wie sie von Erythrozyten in Bouillon bekannt sind.

8. In hypertonen Medien schrumpfen die Symbionten ohne Plasmolyse.

9. Die Membran der Symbionten dürfte der der roten Blutkörperchen ähneln.

10. Aus dem Mycetom von Läuse-larven wurde ein pleomorpher Keim von diphtheroidem Aussehen gezüchtet, der als der Symbiont der Laus anzusprechen ist.

Nachtrag bei der Korrektur. Vor Drucklegung dieser Arbeit erschien die auf S. 438 bereits angekündigte Arbeit von KOTTER¹. Auf von den meinen abweichende Folgerungen KOTTERS soll erst bei späterer Gelegenheit, wenn neue Tatsachen vorliegen, eingegangen werden. Einige Einzelheiten können jedoch schon jetzt angemerkt werden.

1. KOTTER gibt an, verschiedene Stämme von Corynebakterien, oder gar verschiedene Arten aus der Laus gezüchtet zu haben (S. 51 und 52 seiner Arbeit). Nach genaueren Angaben in der Dissertation und schriftlicher Mitteilung an den Verfasser unterschieden sich beide abweichende Stämme lediglich in der Vergärung zweier Zucker von den übrigen, einheitlichen. Das Experiment wurde zweimal durchgeführt (schriftliche Mitteilung).

2. Nach KOTTER liefert eine Untersuchung der Mycetomsymbionten in physiologischer Kochsalzlösung praktisch die gleichen Ergebnisse wie die in Kochblutbouillon (S. 52 seiner Arbeit). Ich verweise hierzu auf meine Angaben über untaugliche Lösungen (S. 419). Bei meinen Untersuchungen in geeigneten Medien erschienen der von KOTTER gefundene, granuliert Zustand stets auch, aber immer *nach* einem homogenen. Die von KOTTER in seiner Abb. 14 gezeigten Mycetomsymbionten sind also nach meiner Meinung absterbende, gequollene Individuen. Der von KOTTER und mir zitierte RIES untersuchte ausschließlich fixierte Symbionten an histologischen Schnitten.

3. Nach KOTTER habe ich meinen morphologischen Identitätsbeweis auf ein einziges Präparat zurückgeführt. Diese Angabe dürfte auf einem Irrtum beruhen, wie meine beiden Punkte (f) und (g) (S. 436) zeigen. Die unter (f) beschriebene Methode ist beliebig reproduzierbar.

4. KOTTER bestreitet die Bakteriennatur der Mycetomsymbionten u. a. auf Grund von Färbungsergebnissen (S. 56—59 seiner Arbeit). Er verwendete dabei (schriftliche Mitteilung) ausschließlich Mycetomsymbionten frisch geschlüpfter Larven. Eigene, zu anderen Zwecken hergestellte Präparate zeigen, daß sich z. B. wenigstens ein Teil der Individuen in den Ovarialampullen reifer Weibchen mit Metyhlenblau und Giemsa dunkel anfärben, was nach KOTTER (S. 57) ein Beweis für ihre Bakteriennatur wäre.

Literatur

ALVERDES, F., u. R. BIELING: Untersuchungen über bakterielle Infektionen bei Kleiderläusen (*Pediculus vestimenti*). Z. Naturforsch. 4b, 150 (1949). — ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 26, 529 (1933). — BARY, A. DE: Die Erscheinungen der Symbiose. Vortr. auf der Naturforsch.-Verslg Cassel 1879. Straßburg: Trübner 1879. — BISSET, K. A.: The development of the surface structures in dividing bacteria. J. Gen. Microbiol. 5, 155 (1951). — BUCHNER, P.: Zur Kenntnis der Symbiose niederer pflanzlicher Organismen mit Pediculiden. Biol. Zbl. 39, 535 (1919). — Symbiose und Anpassung. Nova Acta Leopoldina 8, 257 (1940). — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel u. Stuttgart:

¹ KOTTER, L.: Bakteriologische und mikrochemische Untersuchungen an der Magenscheibe von *Pediculus vestimenti* BURM. Arch. Mikrobiol. 23, 38—66 (1955).

Birkhäuser 1953. — CASPERSSON, T.: The relations between nucleic acid and protein synthesis. Symposia Soc. Exper. Biol. **1**, 127 (1947). — DUBOS, R. J.: The bacterial cell. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1945. — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intracellulären Symbionten von *Pseudococcus citri* Risso. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 78 (1952). — GRÄBNER, K.-E.: Vergleichend morphologische und physiologische Studien an Anobiiden- und Cerambyciden-Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 471 (1954). — HALLMANN, L.: Bakteriologie und Serologie. Stuttgart: George Thieme 1950. — HASE, A.: Die Biologie der Kleiderlaus. Naturwiss. **3**, 613 (1915). — Zur Naturgeschichte der Kleiderlaus. Dermat. Wschr. **62** (1916). — Über die Entwicklungsstadien der Eier und über die Larven der Kleiderlaus. Naturwiss. Wschr. **1916 a**. — Das Halten und Züchten zoologischer Untersuchungsobjekte. III. Insekten. Method. wiss. Biol., II. Allg. Physiol. **1928**, 265. — HÖBER, R.: Physical chemistry of cells and tissues. Philadelphia u. Toronto 1948. — HUBER, L.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an der Wanze *Mesocerus marginatus* L. (Coreidae) und ihren Symbionten. Unveröff.. — KANZ, E.: Die Ti-Celloplatte als Agarersatznährboden. Med. Klin. (Wien) **1948**. — Die Ti-Celloplatte als Agarersatz. Zbl. Bakter. Orig. I **153**, 260 (1949). — KEILIN, D., and G. H. F. NUTTALL: Hermaphroditism and other abnormalities in *Pediculus humanus*. Parasitology **11** (1919). — KOCH, A.: Über künstlich symbiontenfrei gemachte Insekten. Verh. dtsh. zool. Ges. **1933**, 143. — MEINECKE, G.: Formende Einflüsse des Gewebes auf Mikroorganismen, I. u. II. Mitt. Med. Klin. **1950**, 25, 51. — Formende Einflüsse des Gewebes auf Mikroorganismen. III. Mitt. Med. Klin. **1952**, 44. — MINCK, R., J.-P. EBEL et A. MINCK: Le choix du fixateur en cytologie bactérienne. C. r. Soc. Biol. Paris **144**, 288 (1950). — MÜLLER, F. P.: Das Zahlenverhältnis der Geschlechter in Zuchtpopulationen der Kleiderlaus (*Pediculus corporis* DE GEER). Z. Parasitenkde **14**, 285 (1949). — PUCHTA, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus (*Pediculus vestimenti* BURM). Naturwiss. **41**, 71 (1954). — Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Symbiose der Kleiderlaus (*Pediculus vestimenti* BURM). Z. Parasitenkde **17**, 1 (1955). — PULVIRENTI, G. B.: L'azione filamentizzante dell'urea sulla cellula batterica. Riv. Biol., N.S. **43**, 319 (1951). — RESÜHR, B.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. VI. Mitt. Zur Morphologie und Protoplasmatik der bakteroiden Symbionten einiger Homopteren (*philaenus spumarius* L., *Cicadella viridis* L. und *Pseudococcus citri* Risso). Arch. Mikrobiol. **9**, 31 (1938). — RICHARD, O.: Zur Identifizierung der beweglichen Buttersäurebakterien. Schweiz. Z. Path. u. Bakter. **13**, 560 (1950). — RIES, E.: Über die Symbiose der Läuse und Federlinge. Zbl. Bakter. Orig. I **117**, 286 (1930). — Die Symbiose der Läuse und Federlinge. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **20**, 233 (1931). — ROBINOW, C. F.: A study of the nuclear apparatus of bacteria. Proc. Roy. Soc., Lond., Ser. B **130**, 299 (1942). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — SIKORA, H.: Zur Unterscheidung von Kopf- und Kleiderläusen. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **26** (1922). — STAMMER, H. J.: Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. Union internat. des sciences biologiques, Ser. B, **10**: La symbiose des insectes avec les microorganismes, **23**, 1952. — VOLBRECHTSHAUSEN, R.: Bakterien als Symbionten, Synöken und Parasiten bei *Phyllodromia germanica*. Z. Parasitenkde **15**, 437 (1953). — ZOLLINGER, H. U.: Zur Technik der intravitale Phasenkontrastmikroskopie. Experientia (Basel) **8**, 78 (1952).

Dr. OTTO PUCHTA, Zürich (Schweiz),
Zool. Institut der Eidgen. Techn. Hochschule, Universitätsstraße 2

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen

DIE BAKTERIENFLORA DER TRACHEEN UND DES BLUTES EINIGER INSEKTEN*

Von

WERNER FEKL

(Eingegangen am 27. Oktober 1954)

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einführung	442
B. Methodik.	444
C. Eigene bakteriologische Untersuchungen	445
I. Hämolymphe und Tracheen	445
II. Abhängigkeit der Tracheenflora vom Biotop	450
III. Beziehungen der Hämolymphe zur Tracheenflora.	451
IV. Versuche über tracheale Infektionen.	452
D. Diskussion der Ergebnisse	453
Zusammenfassung	456
Literatur	457

A. Einführung

Obwohl bakteriologische Untersuchungen an Insekten nahezu so alt sind wie die Bakteriologie selbst — schon PASTEUR unternahm solche an Seidenraupen, und ihm folgten um die Jahrhundertwende METSCHNIKOFF und PAILLOT — haben wir hier doch ein relativ unberührtes Gebiet biologischer Forschung vor uns. Dies ist um so erstaunlicher, als Bakterien bei Insekten als Trägern und Wirten in der medizinischen Entomologie, der Insekten- und Pflanzenpathologie, ja sogar in der Schädlingsbekämpfung keine unbedeutende Rolle spielen.

Die mikrobiologischen Vorgänge im Insektenkörper sind noch ziemlich unerforscht. Erst die Studien BUCHNERS und seiner Schule über die Bakteriensymbiosen zahlreicher Insekten brachten die Bakterien wieder in den Mittelpunkt des biologischen Interesses. Während die morphologische Seite des Symbioseproblems dank der intensiven Arbeit jenes Kreises nahezu erschöpfend dargestellt ist, kam man der Lösung physiologischer Fragen erst jüngst durch die Untersuchungen ASCHNERS, GLASERS, der KOCHSchen Schule u. a. näher.

Noch immer aber stößt die Reinkultur symbiontischer Mikroben — insbesondere intracellulär lebender — auf große Schwierigkeiten. Solche fehlen bei den Bakterien, welche mit den Insekten kommensalistisch leben.

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

Da wir nun nach STAMMER u. a. annehmen können, daß sich die Symbiose aus dem Kommensalismus entwickelte, kann die Erforschung der ersteren durch das Studium solcher Kommensalen wohl manche Anregung erhalten.

Über die Bakteriologie der Hämolymphe ist relativ wenig bekannt. Es wurden bisher etwa 250 verschiedene Bakterien identifiziert, die mit Insekten assoziiert vorkommen. Die intracellulären Symbionten sind hierbei nicht mitgezählt. Der größte Teil der Keime stammt aus dem Verdauungskanal, doch wurden von verschiedenen Forschern Bakterien auch aus dem Blute sowohl erkrankter, als auch völlig gesunder Insekten isoliert.

1931 beobachtete LILLY, daß das Blut von *Musca domestica* selbst unter völlig normalen Bedingungen eine oder mehrere Bakterien species enthalten kann. Er vermutete, daß diese Hämolympphenflora qualitativ und quantitativ mit dem Alter, der Ernährung und der Umgebung wechselt.

TAUBER und GRIFFITH züchteten 1942 *Staphylococcus albus* aus der Hämolymphe von *Blatta orientalis* und HERMS fand den gleichen Keim im Blute von *Phyllodromia germanica*. Dieser Befund ist zum Teil verständlich, da nach METALNIKOV (1927) *Staphylococcus albus* für Insekten apathogen sein soll. Im Blute normaler Larven fand CAMERON häufig Bakterien, und zwar bei *Graphiphora triangulum*, *Gonepteryx rhamni*, *Smerinthus ocellatus*, *Endromis versicolora*, *Graphiphora agathina*, *Ennomos autumnaria*, *Agrotis ashworthi*, *Euchloris vernaria* und *Aproophyta nigra*. 1934 isolierte der gleiche Autor mehrere extrem virulente Stämme von *Bacillus subtilis* aus dem Blute und dem Verdauungskanal der Wachsmotte. Die künstlich infizierten Larven starben innerhalb 12—24 Std. Andere Stämme hingegen erwiesen sich sogar in sehr hohen Dosen als apathogen. Die Larven überstanden die Infektion und zeigten noch lange Zeit Sporen in den Körperhöhlen. Auch *Streptococcus galleriae* züchtete CAMERON aus dem Blut und dem Verdauungskanal der Wachsmottenlarven. Dieser Keim erwies sich ebenfalls als apathogen.

Über das Vorkommen von Bakterien im Blute *erkrankter* Insekten liegen mehrere Arbeiten vor, welche zum Teil — wie bereits erwähnt — auf die Zeiten PASTEURS zurückgehen.

Zum Beispiel fanden BENEDEK und SPECHT 1933 in der Hämolymphe von erkrankten Lecaniden *Bacillus megatherium* neben einem Pilz. GIARD und BILLET, INMAN, ISSATSCHENKO, HENNEBERG u. v. a. beschrieben pathogenes Leuchten von Insekten durch Infektion mit Leuchtbakterien (Literatur s. bei PFEIFFER und STAMMER). Hervorzuheben sind hier besonders die Studien PFEIFFER und STAMMERS über *Bacterium haemophosphoreum*. Sie konnten durch künstliche Infektion Septikämien erzeugen und interessante Untersuchungen über das Infektionsgeschehen anstellen, welche sowohl das Verhalten der Bakterien, als auch die Abwehrreaktionen des Insektenorganismus betrafen. BABERS berichtete von Septikämien, welche durch *Bacillus cereus* bei *Prodonia cridania* CRAM., *Periplaneta americana* und *Plodia interpunctella* hervorgerufen wurden. Der gleiche Keim wurde aber auch von anscheinend völlig gesunden Insekten isoliert (weitere Angaben bei STEINHAUS).

Arbeiten über die Bakteriologie des Tracheensystems liegen im Schrifttum nicht vor. Vom Atmungstrakt der höheren Tiere ist bekannt,

daß er auch unter normalen Umständen Keime beherbergt, die durch besondere Verhältnisse größere Bedeutung erlangen können.

Da ein mögliches Vorkommen von Mikroorganismen im Tracheensystem und im Blute für viele Forschungsgebiete, wie die Zucht von Symbionten aus Insektenorganen und überhaupt für die Entstehung mancher Symbiosen, von großer Bedeutung ist, erschien es notwendig, bakteriologische Untersuchungen am Tracheensystem und der Hämolymphe verschiedener Insekten vorzunehmen.

B. Methodik

1. *Sterile Präparation.* Wohl das schwierigste Problem bei bakteriologischen Arbeiten mit Insekten stellt die sterile Präparation dar. Einerseits bereitet die Wahrung der Sterilität schon bei Arbeiten mit größeren Objekten oft Schwierigkeiten; während andererseits die Präparation von Insekten, wegen der Kleinheit des Operationsgebietes, zuweilen nicht ganz einfach ist. Ein Teil der bisherigen bakteriologischen Untersuchungen an Insekten scheint in dieser Hinsicht etwas fragwürdig zu sein.

Um eine sterile Entnahme von Tracheen und Hämolymphe bei den eigenen Versuchen zu gewährleisten, war es zunächst notwendig, verschiedene gebräuchliche Praktiken der äußeren Desinfektion und der aseptischen Präparation im Keimträgerversuch mittels Gips-Kieselgurkügelchen, die mit verschiedenen Kulturen beschmiert waren, zu prüfen. Dabei waren die meisten Methoden sehr unzuverlässig. Auch wenn Tiere mehrmals in Alkohol getaucht und abgebrannt wurden, zeigte stets ein Teil der bakteriologischen Kontrollen positive Resultate. Längeres Einlegen der Tiere in Desinfektionsmittel, wie Sublimatalkohol, Hydroperoxyd, alkoholische Chloraminlösung und dergleichen war schon deswegen durchaus ungeeignet, weil die Desinfektionsmittel in die Tracheen diffundierten und dort vorhandene Keime natürlich schädigten oder vernichteten. Außerdem bestand bei der Länge der Zeit die Gefahr, daß eine Infektion der Hämolymphe durch Darmkeime eintrat.

Es erwies sich als sehr zweckmäßig, das gereinigte und an der Oberfläche mit Jodtinktur behandelte Tier in geschmolzenes, heißes Paraffin zu tauchen¹. Durch die genannte Prozedur wurden die meisten Oberflächenkeime abgetötet und selbst sehr resistente Sporen (welche wohl auch einer anderen Behandlung widerstanden hätten) wurden zumindest fixiert und so vom Operationsfeld ferngehalten. Die Keime der inneren Organe, einschließlich Tracheensystem und Hämolymphe, schienen bei nicht allzulanger Tauchzeit keine wesentliche Schädigung zu erfahren.

Nach Tötung der Tiere mit Äther, gründlicher Reinigung und Desinfektion wurden sie unter sterilen Kautelen präpariert. Zuerst wurden Hämolympheproben, dann Tracheenstücke entnommen und abgeimpft. Bei der Entnahme von Hämolymphe war darauf zu achten, daß Verletzungen der Tracheen weitgehend vermieden wurden. Um die Tracheen von anhaftender Hämolymphe zu reinigen, wurden sie durch einige Bäder mit sterilem Wasser geführt. Wir präparierten bei *Grylotalpa* das Abdomen ventral, bei *Dytiscus* und *Melolontha* dorsal. Bei *Apis* wurden die besonders stark entwickelten Tracheen des vorderen Thorax, welche in das erste Stigmenpaar münden, präpariert. Lymphe entnahmen wir hier nach entsprechender Präparation aus dem Abdomen.

¹ Herrn Oberarzt Dr. KELLNER vom Hygienischen Institut der Stadt Nürnberg danke ich für die Anregung zu diesem Verfahren.

2. *Verwendete Nährböden.* Von den üblichen Nährböden wurden folgende verwendet: Blutplatte, Agarplatte, Löfflerplatte, Endoplatte, Gelatineplatte, Kartoffelschnitte, Neutralrotagar, Stichagar, Hochagar, Stichgelatine. Ferner wurden Kulturen angelegt, in Nährbrühe, Tryptophanbrühe, Nitratbrühe, Peptonwasser und Milch. Meistens wurde eine bunte Reihe mit folgenden Substanzen angelegt: Glucose, Lactose, Saccarose, Salicin, Maltose, Dulcit, Mannit, Xylose. Speziellere Böden waren nur in einigen Fällen notwendig. Soweit möglich, kamen BRAMSche Trockennährböden zur Verwendung, die sich durch konstante Zusammensetzung auszeichnen. Es erwies sich als günstig, besonders den Anzuchtnährböden Insektendekokt zuzusetzen. Bei der Bereitung von Nährböden wurde ebenso wie bei der Durchführung diagnostischer Färbung und der Beurteilung von Stoffwechsel, Wachstum und Färbbarkeit entsprechend den Vorschlägen des „Ausschusses für bakteriologische Untersuchungstechnik“ der amerikanischen Bakteriologen vorgegangen.

3. *Kultur der Bakterien.* Die mit Tracheen oder Hämolymphe beimpften Platten wurden teils im 37°-Thermostat, teils bei Zimmertemperatur bebrütet, bis sich makroskopisch deutlich sichtbares Wachstum zeigte. Erschienen die Kolonien unter dem Plattenmikroskop einheitlich, so wurde ein Abstrich nach GRAM gefärbt. Lag auch mikroskopisch ein einheitliches Bild vor, so wurde auf frische Platten oder Schrägagarröhrchen abgeimpft. Mischkulturen wurden entweder durch Ausstriche auf Platten oder durch modifiziertes KOCHSches Ausgußverfahren getrennt.

4. *Die Bestimmung der Reinkulturen.* Die Reinkulturen wurden nach „BERGEYS Manual“ und der „Bakteriologischen Diagnostik“ von LEHMANN-NEUMANN bestimmt. Soweit möglich, hielten wir uns an das modernere amerikanische Werk. Oft aber konnte man — besonders in bezug auf die stoffwechselphysiologischen Eigenschaften der gezüchteten Stämme — dem allzustarren Schema BERGEYS nicht folgen. Es zeigten sich oft zahlreiche Varianten und daher mußten bei der Bestimmung zuweilen die morphologischen Eigenschaften in erster Linie verwertet werden, wie sie auch LEHMANN-NEUMANN bevorzugten.

C. Eigene bakteriologische Untersuchungen

I. Hämolymphe und Tracheen

1. *Gryllotalpa.* Mit der angegebenen Technik wurden 100 Tiere untersucht. In den Tracheen von 40 Gryllotalpen ließen sich kulturell

Tabelle 1

Tierart	Zahl der unter- suchten Tiere	Tiere mit nega- tivem Befund in Trachee und Lymphe	Tiere mit posi- tivem Befund in Trachee- befund	Tiere mit posi- tivem Tracheen- und Lym- phen- befund	Tiere mit positivem Lymphen- und negativem Tracheen- befund	Zahl der isolierten Kul- turen	Zahl der verschie- denen Keime
<i>Gryllotalpa vulg.</i>	100	19	80	13	1	104	17
<i>Melolontha mel.</i> (1. Serie) . .	50	5	45	4	0	50	9
<i>Melolontha mel.</i> (2. Serie) . .	40	7	32	6	1	65	11
<i>Dytiscus marginalis</i>	8	1	7	2	0	12	6
<i>Apis mellifica</i> (gesund)	100	16	83	4	1	108	15
<i>Apis mellifica</i> (m. <i>Acarapis</i>) .	100	17	83	16	0	113	17
<i>Apis mellifica</i> (fluglahm) . .	50	7	43	3	0	53	12
Summe	448	72	373	48	3	505	36

Bakterien nachweisen. Bei 13 dieser Tiere war auch ein positiver Befund in der Hämolymphe zu verzeichnen. Bei einem einzigen Tier zeigte sich bei negativem Tracheenbefund ein positiver Befund in der Hämolymphe (s. Tabelle 1 und 2).

Tabelle 2

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Ober- fläche
<i>Actinomyces</i>	7×	+	2×	+	9×	+
<i>Bacillus cereus</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Bacillus megatherium</i>	6×	+	—	—	6×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	7×	+	—	—	7×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	10×	+++	3×	+	13×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	15×	++	5×	+ o. ++	20×	+
<i>Bacillus vulgatus</i>	4×	++	—	—	4×	—
<i>Corynebacterium helvolum</i>	7×	++	1×	+	8×	—
<i>Corynebacterium tumescens</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Escherichia coli</i>	4×	++	—	—	4×	+
<i>Micrococcus candidans</i>	7×	+++	2×	+ o. ++	9×	+
<i>Micrococcus flavus</i>	2×	+	—	—	2×	—
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	6×	++	2×	+	8×	+
<i>Micrococcus varians</i>	5×	++ o. +++	2×	+ o. ++	7×	+
<i>Proteus vulgaris</i>	2×	+—	—	—	2×	—
<i>Sarcina alba</i>	5×	++	—	—	5×	+
<i>Sarcina lutea</i>	1×	++	—	—	1×	—
Summe	92×		17×		109×	

+— = sehr wenig, + = wenig, ++ = mittel, +++ = zahlreich.

Die Angaben „mittel“, „zahlreich“ usw. als Maß der Stärke des Bakterienbefalls sind natürlich sehr relativ. Genaue quantitative Angaben sind hier kaum zu erhalten. Da stets mehrere Tracheenstücke bzw. Hämolympfenproben ausgestrichen wurden, errechnete ich den Durchschnittswert für einen Ausstrich und wertete folgendermaßen: 0—1 Kolonien = sehr wenig, 1—2 Kolonien = wenig, 2—5 Kolonien = mittel, 5 Kolonien und mehr = zahlreich.

In mit Bakterienfarbstoffen behandelten Tracheen gelang es, einzeln Stäbchen, Coccen und Sporen darzustellen. Der Befall war stets sehr schwach (die kulturellen Angaben wie „mittel“ oder „zahlreich“ sind, wie gesagt, nur relativ zu bewerten). Es dürften ja überhaupt die chitinisierten Tracheen äußerst ungünstige Medien für hereingelangte Keime darstellen, so daß hier wohl meist Ruhestadien (z. B. Sporen) vorherrschen.

Erwartungsgemäß zeigte sich auch, wenn die vorderen starken und die hinteren feinen Abschnitte der Tracheen getrennt untersucht wurden,

daß die starken Tracheenäste bedeutend bakterienreicher sind, als die feinen Verzweigungen.

2. *Melolontha melolontha*. Es wurden 2 Fänge von Tieren, welche von verschiedenen Orten stammten (Serie 1 in der Nähe von Stuttgart, Serie 2 bei Heidelberg gesammelt) untersucht.

a) Bei 50 geprüften Tieren zeigte sich 45mal ein positiver Befund der abgeimpften Tracheen und bei den gleichen 45 Tieren 4mal ein Keimgehalt des Blutes (Tabelle 1 und 3).

Tabelle 3

Keim	Trachee		Lymph		Ins- gesamt
<i>Bacillus mesentericus</i>	6×	+	1×	+	7×
<i>Bacillus mycoides</i>	3×	— o. +	—	—	3×
<i>Bacillus subtilis</i>	7×	+ o. + +	2×	+	9×
<i>Corynebacterium simplex</i> . . .	3×	+	—	—	3×
<i>Flavobacterium diffusum</i> . . .	5×	+	—	—	5×
<i>Micrococcus flavus</i>	8×	+	—	—	8×
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	3×	+ +	—	—	3×
<i>Proteus vulgaris</i>	6×	— o. +	—	—	6×
<i>Sarcina lutea</i>	5×	+	1×	+ +	6×
Summe	46×		4×		50×

b) Von dieser Serie wurden 40 Tiere geprüft. 32mal ließen sich Bakterien aus Tracheen züchten. Bei 6 Tieren zeigten sich Keime in Tracheen und Hämolymphe zugleich, während 1mal nur die Hämolympphenkultur anging (Tabelle 1 und 4).

Tabelle 4

Keim	Trachee		Lymph		Ins- gesamt
<i>Bacillus cereus</i>	12×	+ bis + + +	3×	+ o. + +	15×
<i>Bacillus megatherium</i>	1×	+ + +	—	—	1×
<i>Bacillus mesentericus</i>	6×	+ +	—	—	6×
<i>Bacillus subtilis</i>	3×	+	1×	+	4×
<i>Chromobacterium ianthinum</i> . .	2×	+	—	—	2×
<i>Escherichia coli</i>	5×	+	—	—	5×
<i>Flavobacterium rhenanus</i> . . .	2×	— o. +	—	—	2×
<i>Micrococcus flavus</i>	9×	+ +	—	—	9×
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	7×	+ + o. + + +	2×	+ +	9×
<i>Pseudomonas mildenbergii</i> . .	1×	+	—	—	1×
<i>Sarcina alba</i>	11×	+ bis + + +	—	—	11×
Summe	59×		6×		65×

3. *Dytiscus marginalis*. Hier wurden 8 Exemplare untersucht. Bei 2 Tieren zeigten sich Keime in Tracheen und Hämolymphe, während die weiteren 5 Tiere nur positiven Tracheenbefund zeigten (Tabelle 1 und 5).

Tabelle 5

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt
<i>Bacillus mesentericus</i>	1×	++	—	—	1×
<i>Chromobacterium violaceum</i> . .	2×	++	—	—	2×
<i>Micrococcus candicans</i>	3×	+	—	—	3×
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	2×	+++	2×	+	4×
<i>Micrococcus varians</i>	1×	+	—	—	1×
<i>Vibrio liquefaciens</i>	1×	+	—	—	1×
Summe	10×		2×		12×

4. *Apis mellifica*. Hier wurden 3 Gruppen untersucht.

a) *Gesunde Bienen*. Wir prüften 100 Tiere und fanden bei 83 davon in den untersuchten Tracheen Keime und wiederum bei 4 davon zugleich Bakterien in der Hämolymphe. 1 Tier zeigte bei positivem Lymphnenbefund einen negativen Befund der abgeimpften Tracheen (Tabelle 1 und 6).

Tabelle 6

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	6×	+	—	—	6×	+
<i>Bacillus alvei</i>	1×	+	—	—	1×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	8×	+	—	—	8×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	9×	++	2×	+	11×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	13×	+	2×	+—	15×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	16×	+	1×	—	17×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	8×	++	1×	+	9×	+
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	4×	+	1×	+	5×	+
<i>Micrococcus radiatus</i>	2×	+	—	—	2×	—
<i>Proteus mirabilis</i>	5×	+	—	—	5×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i> . . .	3×	+—	—	—	3×	+
<i>Sarcina aurantiaca</i>	10×	+	—	—	10×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	—	—	5×	+
<i>Sarcina lutea</i>	9×	+	—	—	9×	+
Summe	101×		7×		108×	

Bei orientierenden Untersuchungen über die Keime der Bienenoberfläche ergab sich der schon von WHITE erhobene Befund, daß eine relative Keimarmut und eine ziemliche Eintönigkeit der Oberflächenflora zu beobachten ist. WHITE fand nur 3 Species (*Bacillus A*, *Bacillus cyaneus* und *Micrococcus C*) auf gesunden erwachsenen Bienen normaler Stöcke. Diese anscheinende Keimarmut ist sehr erstaunlich, da doch der Körper der Biene geradezu prädestiniert ist, Fremdkörper (z. B. Pollen) zu tragen. Es bedürfte noch weiterer Untersuchungen, ob nicht Beziehungen zu den von DOLD festgestellten Bakterieninhibitoren des Bienenhonigs bestehen. Die Oberflächenflora der Biene wurde nicht

weiter analysiert. Das von WHITE festgestellte *Bacterium cyaneum* fanden wir jedoch nicht.

b) *Milbenkranke Bienen*. Bei 100 untersuchten Tieren ergab die kulturelle Untersuchung 83mal Bakterien in den Tracheen und 16mal Bakterien in der Hämolymphe (Tabelle 1 und 7).

Tabelle 7

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	2×	+	1×	+	3×	+
<i>Aerobacter cloacae</i>	5×	++	—	—	5×	—
<i>Bacillus alvei</i>	8×	+ o. ++	2×	+	10×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	5×	+	—	+	5×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	11×	+++	4×	++	15×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	9×	++ o. +++	4×	+	13×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	4×	++	1×	++	5×	+
<i>Escherichia coli</i>	2×	++ o. +++	1×	+	3×	—
<i>Micrococcus flavus</i>	10×	+	2×	+	12×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Proteus mirabilis</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4×	++ o. +++	1×	++	5×	+
<i>Sarcina aurantiaca</i>	5×	+	1×	+	6×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	2×	+	7×	+
<i>Sarcina lutea</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Streptococcus faecalis</i>	9×	++	3×	++	12×	+
<i>Streptococcus liquefaciens</i>	4×	+ o. ++	2×	+	6×	+
Summe	89×		24×		113×	

c) *Fluglahme Bienen ohne Milben*. Hier wurden die Ergebnisse von 50 Tieren verwertet, welche aus befallenen Stöcken stammten und auch fluglahm waren, bei denen jedoch keine Milben in den Tracheen beobachtet wurden. 43mal ergab sich ein positiver bakteriologischer Befund in den Tracheen, wobei 3 dieser Tiere auch in der Hämolymphe Keime zeigten (Tabelle 1 und 8).

Tabelle 8

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	3×	+	—	—	3×	+
<i>Bacillus alvei</i>	1×	+	—	—	1×	—
<i>Bacillus mesentericus</i>	5×	++	—	—	5×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	7×	++	2×	+	9×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	6×	++	—	—	6×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	3×	+	1×	—	4×	—
<i>Micrococcus luteus</i>	4×	++	—	—	4×	+
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	5×	++	2×	+	7×	+
<i>Proteus mirabilis</i>	1×	+	—	—	1×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4×	+	1×	+	5×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	—	—	5×	+
<i>Streptococcus liquefaciens</i>	2×	— o. +	1×	+	3×	—
Summe	46×		7×		53×	

Es wurden bei den 448 untersuchten Insekten folgende 36 verschiedene Keime isoliert und bestimmt:

<i>Actinomyces</i> (G, A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus candicans</i> (G, D)
<i>Aerobacter cloacae</i> (A ₂)	<i>Micrococcus flavus</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₂)
<i>Bacillus alvei</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus luteus</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Bacillus cereus</i> (G, M ₂)	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₃)
<i>Bacillus megatherium</i> (G, M ₂)	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i> (D)
<i>Bacillus mesentericus</i> (G, M ₁ , M ₂ , D, A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus radiatus</i> (A ₁)
<i>Bacillus mycoides</i> (G, M ₁ , A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus varians</i> (G, D)
<i>Bacillus subtilis</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Proteus mirabilis</i> (G, A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Bacillus vulgatus</i> (G)	<i>Proteus vulgaris</i> (G, M ₁)
<i>Bacterium prodigiosum</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Chromobacterium ianthinum</i> (M ₂)	<i>Pseudomonas mildembergii</i> (M ₂)
<i>Chromobacterium violaceum</i> (D)	<i>Sarcina alba</i> (G, M ₂)
<i>Corynebacterium helvolum</i> (G)	<i>Sarcina aurantiaca</i> (A ₁ , A ₂)
<i>Corynebacterium simplex</i> (M ₁)	<i>Sarcina flava</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Corynebacterium tumescens</i> (G)	<i>Sarcina lutea</i> (G, M ₁ , A ₁ , A ₂)
<i>Escherichia coli</i> (G, M ₂ , A ₂)	<i>Streptococcus faecalis</i> (A ₂)
<i>Flavobacterium diffusum</i> (M ₁)	<i>Streptococcus liquefaciens</i> (A ₂ , A ₃)
<i>Flavobacterium rhenanum</i> (M ₂)	<i>Vibrio liquefaciens</i> (D)

Die Buchstaben in den Klammern geben an, in welchen Tieren die Keime gefunden wurden. Die Abkürzungen bedeuten folgendes.

G = gefunden bei <i>Gryllotalpa</i>	A ₁ = gefunden bei gesunden Bienen
M ₁ = gefunden bei <i>Melolontha</i> der 1. Serie	A ₂ = gefunden bei milbenkranken Bienen
M ₂ = gefunden bei <i>Melolontha</i> der 2. Serie	A ₃ = gefunden bei fluglahmen Bienen ohne Tracheenmilben
D = gefunden bei <i>Dytiscus marginalis</i>	

II. Abhängigkeit der Tracheenflora vom Biotop

Es war anzunehmen, daß man, entsprechend dem Biotop von *Gryllotalpa* mit typischen Erdkeimen rechnen mußte. Es erschiene auch seltsam, wenn das Atmungssystem eines Tieres, welches sich ständig in keimreicher Erde bewegt, steril sein sollte. Sind doch die Tracheen als eine nach innen verlagerte Außenwelt aufzufassen. Die Tracheenflora wechselte bei den verschiedenen Fängen qualitativ und quantitativ. Irgendeine Konstanz war nicht festzustellen und es mag sich bei erneuten Untersuchungen eine völlig andere Zusammensetzung ergeben.

Ein großer Teil der untersuchten Tiere stammte aus gut gedüngten Beeten des Botanischen Gartens (Erlangen). Um den Keimgehalt des entsprechenden Lebensraumes zu prüfen, wurden Erdproben aus etwa 10–15 cm Tiefe entnommen und mittels Verdünnungs- und Platten-gußverfahren die Keimzahl festgestellt. Sie betrug ungefähr 250 Millionen je Gramm Erde. Dabei muß beachtet werden, daß ein solches Verfahren nur einen Teil der Erdkeime erfaßt.

Im einzelnen wurden nachgewiesen: *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mesentericus*, *Bacterium prodigiosum*, ver-

schiedene weiße und gefärbte Micrococcen und Sarcinen sowie Actinomycceten. Etwa die gleichen Keime wurden erhalten, wenn ungereinigte Tiere über den Nährboden gestrichen wurden (Tabelle 2, Spalte Oberfläche).

Um den Unterschied zu den Keimen der Laborluft zu prüfen, wurden im Arbeitsraum Luftplatten aufgestellt. Hier fanden sich besonders weiße und gefärbte Micrococcen, Sarcinen (vor allem *Sarcina flava*), 2mal *Micrococcus pyog. var. albus*, 1mal *Bacillus mesentericus*, sowie ein farblos wachsendes Stäbchen. Die meisten dieser Keime waren in der Erde nicht oder in geringem Maße gefunden worden.

Die Buntheit der Tracheenflora entspricht also derjenigen der Erdflora. Praktisch alle isolierten Mikroorganismen stellten typische, meist ubiquitäre Erd- und Luftkeime dar.

Die bei *Gryllotalpa* erhobenen Befunde entsprechen durchwegs den bei andern Insekten gewonnenen. Stets ließen sich aus den Tracheen die verschiedensten Bakterien und bei einzelnen Tieren auch Keime aus der Hämolymphe züchten. Eine besondere Konstanz in der Zusammensetzung der Tracheen- oder Hämolympphenflora fand sich nicht. Je nach dem Lebensraum war eine andere Zusammensetzung zu finden. Dies zeigten besonders deutlich die beiden Serien von *Melolontha*, die von verschiedenen Orten stammten.

Auch die Befunde bei den gesunden Bienen entsprachen durchaus den oben angeführten.

III. Beziehungen der Hämolympphen- zur Tracheenflora

Wie bereits erwähnt, sind von mehreren Autoren (CAMERON, LILLY PAILLOT usw.) Bakterien aus der Hämolymphe anscheinend völlig gesunder Insekten gezüchtet worden. Die Herkunft dieser Mikroorganismen und die Gründe für eine solche Toleranz der Insekten sind jedoch völlig offene Fragen.

Auffallend ist bei unseren Untersuchungen, daß sich im Blut nur Bakterien fanden, die auch in den Tracheen nachgewiesen wurden. Eine Verunreinigung der Hämolymphe mit Tracheenkeimen ist durch die angewandte Präparationstechnik vermieden worden. Eine vom Darm ausgehende Infektion darf ausgeschlossen werden, da die meisten der Blutbakterien weder von KELLER noch von uns im Grillendarm gefunden werden konnten. Einige Bakterienspecies (z. B. *Bacillus subtilis*) fanden sich zwar sowohl im Darm, als auch in der Hämolymphe, doch war es leicht möglich, die vom Darm stammenden Keime von denen der Hämolymphe zu differenzieren. Eine Aufklärung über den Zusammenhang zwischen Hämolympphen- und Tracheenflora scheint aus den Befunden, die wir an milbenkranken Bienen gewonnen haben, möglich zu sein.

Bei gesunden Bienen sind Hämolympphenkeime nach unseren Beobachtungen ziemlich selten. Um so auffallender waren die Ergebnisse bei milbenbefallenen.

Die Bienenmilbe (*Acarapis woodi*) hat bekanntlich ihren Sitz in den besonders stark entwickelten Tracheen des vorderen Thorax, welche in das 1. Stigmenpaar münden. Die Milbe ernährt sich vom Bienenblut, das sie nach Durchstechen der Tracheenwand aufsaugt. Bei der Verletzung der Trachee dringt Blut in die Tracheen ein, gerinnt und bildet zusammen mit dem Milbenkot oft einen ausgedehnten Schorf. Es erschien durchaus wahrscheinlich, daß sich daraus auch bakteriologische Folgerungen ergeben.

Vergleicht man unsere Befunde bei gesunden Bienen mit denen bei milbenkranken, so zeigt sich, daß der Befall der Tracheen bei letzteren stets bedeutend stärker war. Auch die qualitative Zusammensetzung der Tracheenflora verschiebt sich bei Milbenbefall. Dabei treten vorwiegend Eiweißverwerter bzw. Fäulnisbakterien (zum Teil reine Fäkalbakterien), ja sogar teilweise stark bienenpathogene Keime in den Vordergrund.

Noch auffallender sind die Resultate bei der Hämolymphe. Die Zahl der Tiere mit bakterienhaltiger Hämolymphe übersteigt bei Milbenbefall das Dreifache des Wertes der gesunden Bienen. Die Zusammensetzung der Hämolympphenflora verschob sich dabei im gleichen Sinne wie die der Tracheenflora, so daß der Zusammenhang zwischen beiden hier besonders auffallend ist. Gerade bei den milbenkranken Bienen macht aber die Vorstellung eines Zusammenhanges zwischen den Bakterien der befallenen Tracheen und der Hämolymphe keine Schwierigkeiten. Ebenso ist es verständlich, daß der Befall der Tracheen mit Milben, besonders aber die Schorfbildung zu einer qualitativen und quantitativen Veränderung der Bakterienflora führt.

IV. Versuche über tracheale Infektionen

Es sollte nun auch experimentell die Infektion der Tracheen von der Umgebung her gezeigt werden. Dazu wurden Tiere in Behälter gesetzt, die mit *Bacillus megatherium* und *Staphylococcus albus* (*Micrococcus pyogenes* var. *albus*) verunreinigt waren. Zum Teil beschmierten wir auch unter Vermeidung der Stigmen die Oberfläche der Tiere mit den Keimen, die mit Hilfe von Elektivböden leicht isoliert werden konnten. Nachdem die Tiere mehrere Tage in den Gefäßen verweilten, wurden sie in bekannter Weise präpariert, und es wurden Proben der Tracheen und der Hämolymphe in Bouillon gegeben. Nach kurzer Bebrütung wurde die eine Hälfte der Nährlösung mit verflüssigtem Nähragar, der 10% Kochsalz enthielt (*Staphylococcus albus*-Elektivboden) vermischt und zu Platten gegossen.

Die andere Hälfte wurde im Dampftopf erhitzt und zusammen mit Nähragar, der 50% Dextrose enthielt (*Bacillus megatherium*-Elektivboden) zu Platten ausgegossen.

Zuerst wurden 12 Gryllotalpen in dieser Weise getestet. Die Tiere waren 3 Tage in den intizierten Behältern gewesen. Das Ergebnis ist aus Tabelle 9 zu ersehen.

Der Versuch wurde an 20 gesunden Bienen, welche 5 Tage in den intizierten Behältern waren, wiederholt (s. Tabelle 10).

Bei 20 milbenkranken Bienen kam es zu den aus Tabelle 11 zu ersiehenden Resultaten.

Damit war deutlich gezeigt, daß die Keime der Umgebung Zutritt zu den Tracheen haben und daß auch die Möglichkeit einer Infektion der Hämolymphe über die Tracheen besteht.

Tabelle 9

Zahl der Tiere	Tracheen		Lymphe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
3	0	0	0	0
2	+	+	0	+
1	+	+	+	0
5	+	+	0	0
1	0	+	0	0
Bei 12 Tieren	8×	9×	1×	2×

Tabelle 10

Zahl der Tiere	Tracheen		Lymphe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
6	0	0	0	0
2	+	+	0	+
1	0	+	0	+
8	+	+	0	0
1	+	0	0	0
2	0	+	0	0
Bei 20 Tieren	11×	13×	0×	2×

Tabelle 11

Zahl der Tiere	Tracheen		Lymphe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
3	0	0	0	0
6	+	+	+	+
8	+	+	0	0
3	0	+	0	0
Bei 20 Tieren	14×	17×	6×	6×

D. Diskussion der Ergebnisse

Es darf nicht verwundern, daß bei unseren Untersuchungen Pilze nicht in Erscheinung treten. Zum Beispiel durfte bei der fast neutralen Reaktion des Gartenbodens bekanntlich die Bakterienflora weitaus überwiegen. Zudem verwendeten wir reine Bakteriennährböden mit alkalischer Reaktion, während Pilze saures Milieu bevorzugen. Auch wurde die Anzuchtplatte nur relativ kurz beobachtet (wie es für Bakterien ausreichend ist), und einzelne etwa vorgekommene Schimmelpilze konnten von Verunreinigungen nicht differenziert werden. Bei einer bakteriologischen Untersuchung des Tracheensystems durften wohl die obligaten Anaerobier von vornherein ausgeschlossen werden, was die Methodik wesentlich erleichterte. Ebenso blieben die obligat autotrophen Arten, d. h. Keime, die nur auf Nährböden ohne jeglichen organisch gebundenen Stickstoff gedeihen, völlig unbeachtet. In gleicher Weise wurde auf einen Nachweis von Virusarten, Rickettsien u. ä. verzichtet.

Actinomyceten wurden sicher weniger nachgewiesen, als ihrem quantitativen Vorkommen entspräche. Nach Ansicht mancher Autoren (LIESKE, MEYER, RIPPEL) bilden sie den Hauptbestandteil der Bodenmikroflora. Sie erscheinen jedoch, wegen ihres sehr langsamen Wachstums erst nach längerer Zeit auf den Kulturplatten. Solange beobachteten wir — wie bereits oben angedeutet — aber meistens nicht dieselbe Platte. Die isolierten Actinomyceten wuchsen anfangs grünlich, waren fest und spröde und mit dem Nährboden fest verwachsen. Sie zeigten charakteristischen Erdgeruch und starke Hämolyse. Nach einiger Zeit sahen sie matt, kreidig, bestäubt aus. Es wird sich wohl um *Actinomyces odorifer* oder einen nächst verwandten Mikroorganismus gehandelt haben.

Nach den vorliegenden Untersuchungen dürfte feststehen, daß die Tracheen der Insekten praktisch immer Keime enthalten. Sicher ist die Tracheeninfektion in Wirklichkeit stets 100%ig; die negativen Befunde entstanden wohl durch die sorgfältige Desinfektion. Der Zusammenhang mit dem Biotop ist ebenso auffallend, wie auch einleuchtend. Da der Biotop meist viele verschiedene Keime enthält, gestaltet sich auch die Tracheenflora meist bunt. Bei *Gryllotalpa* war dieser Zusammenhang sehr deutlich. Die Buntheit der Keimflora des Erdbodens ist bekannt. Er stellt ein äußerst inhomogenes Medium dar. In ihm ändern sich die Verhältnisse ständig nicht nur nach der Tiefe, sondern sogar in der gleichen Höhenschicht. Jedes Mineralbestandteilchen anderer Art schafft neue Umweltbedingungen. Jedes Insektenteilchen kann infolge Ammoniakbildung eine alkalische Mikrozone veränderter Reaktion bilden. Zellulose- oder Ligninstückchen können die Reaktion nach der sauren Seite verschieben und veränderte Ernährungsverhältnisse schaffen. In gleicher Weise können lebende Pflanzenwurzeln zu anderen Bedingungen führen (RIPPEL-BALDES). Man hat dementsprechend auch mit Mikromethoden an verschiedenen Bodenbestandteilchen verschiedene H-Ionenkonzentrationen gemessen. Bei den aus Beeten des Botanischen Gartens stammenden Tieren machte sich noch menschlicher Eingriff in Form von Düngung bemerkbar. Nach Zufuhr leicht zersetzbarer organischer Substanzen vermehren sich bekanntlich insbesondere die Eiweiß- und Kohlenhydrate abbauenden Bakterien, die man quasi als „Gelegenheitsarbeiter“ ansprechen darf (RIPPEL-BALDES). Ein typischer Vertreter dieser Gruppe ist *Bacillus mycoides*. GRUNDMANN hat seine Verbreitung im Hochgebirge untersucht, wo gedüngte und ungedüngte Böden oft in nächster Nähe nebeneinander vorkommen. In ähnlicher Weise ist auch *Bacterium coli* die Leitform von mit Fäkalien verunreinigtem Wasser, die in reinem Wasser und unverschmutztem Boden nicht gedeiht. Eine kleine Rolle mag auch die jahreszeitlich und klimatisch bedingte Schwankung des Mikroorganis-

mengehaltes des Bodens bei solchen Untersuchungen spielen. (Es geht z. B. der Mikroorganismengehalt des Bodens dem Produkt aus Temperatur und Feuchtigkeit parallel.) Ähnliche Verhältnisse finden wir im Lebensraum der weiteren untersuchten Insekten.

Schwerer verständlich scheint das schon öfters beobachtete und bei Insekten wohl gar nicht seltene Auftreten von Bakterien in der Hämolymphe. E. ZANDER meinte, daß eigentlich nur der Mund als Eintrittspforte in Betracht komme, da die Oberfläche von einer undurchdringlichen Chitinhülle überzogen ist. Das gleiche ist bei den Tracheen der Fall; daher könnten die Keime auch nicht durch die seitlichen Atemlöcher einwandern.

Auch TAUBER, der *Staphylococcus albus* als pathogenen Keim in der Hämolymphe fand, befaßte sich mit der Frage nach dem Infektionsweg, der zum Befall des Blutes mit Mikroorganismen führt. Er meint, das Insekt komme nach der Häutung, wenn das Exoskelet sehr weich und verletzbar ist, in Kontakt mit infizierten Tieren. Dabei könnten die Bakterien die feine Haut aktiv durchdringen oder durch kleine Sprünge in der Oberfläche in den Körper gelangen.

PFEIFFER und STAMMER, die durch Fütterung keine Infektion mit *Bacterium haemophosphoreum* erzeugen konnten, nahmen ebenfalls an, daß die Infektion durch eine Verletzung der Haut, des Darmes oder durch Insektenstiche erfolgt. Solche Verletzungen können aber wahrscheinlich sogar leichter bei den feinen Tracheen vorkommen, so daß man auch diese unter anderem als Infektionsquelle in Betracht ziehen muß. Daß Insektenstiche, besonders aber ein Tracheenparasitismus zu einer Infektion führen können, zeigen deutlich die Resultate der Untersuchungen an Milbenbienen.

Nachdem CAMERON, LILLY usw. und auch wir relativ oft infizierte Insekten fanden, scheint es sich bei solchen Infektionen keineswegs um Ausnahmen zu handeln. Der Insektenorganismus kommt anscheinend recht oft mit den Keimen seines Lebensraumes in engsten Kontakt, und es mag sich daraus die Resistenz dieser Tiere gegen viele Bakterien erklären. Daß sich aus einer solchen Resistenz gegen kommensalistische Keime eine Symbiose entwickeln kann, erscheint durchaus möglich. Wie sich symbiontische Keime in der Darmflora bei der natürlichen Besiedlung des Darmes durch die Keime der aufgenommenen Nahrung ausbilden, kann es auch hier zu ähnlichen Verhältnissen kommen. Im weiteren Fortschreiten der wechselseitigen Anpassung zwischen Mikro- und Makroorganismen stellt anscheinend letzterer Mycetome zur Verfügung (Näheres bei STAMMER). Weitere Untersuchungen in dieser Richtung erscheinen wünschenswert.

Der Bakteriengehalt von Tracheen und Lymphe muß natürlich bei bakteriologischen Arbeiten an Insekten, insbesondere der Zucht von

Symbionten berücksichtigt werden. Zunächst ist bei der bakteriologischen Arbeit an Insekten darauf zu achten, daß nicht nur Darm und Darmanhänge, sondern auch die Tracheen möglichst unverletzt bleiben. Will man Keime aus Organen züchten, so muß der Keimgehalt des Blutes berücksichtigt werden. Es ist jedenfalls zu empfehlen, auch Hämolympfenproben in solchen Fällen mit abzuimpfen und die Organe gründlich in sterilem Wasser zu waschen, wenn nicht sogar durch Desinfektionsbäder zu führen. Die Wahrscheinlichkeit, bei den Insekten Fremdkeime zu züchten, ist außerordentlich groß. Manche, angeblich gezüchteten Symbionten dürften nichts anderes darstellen, als auf diese Weise, selbst bei subtiler Technik, in die Kultur kommende Fremdkeime. Gerade im Hinblick auf Autoren wie H. SCHANDERL, welche in letzter Zeit aus allen möglichen tierischen und pflanzlichen Geweben sog. „Symbionten“ züchten, sind strenge Forderungen nötig. Diese haben sowohl die Versuchstechnik, als auch die Auslegung zu betreffen. Besonders ist Keimen, welche auf den allgemeinen Nährböden wachsen, Skepsis entgegenzubringen. Nach STAMMER müssen für das Vorliegen einer neuen Symbiose folgende Forderungen erfüllt sein.

Nachweis der Regelmäßigkeit des Auftretens der Symbionten in verschiedenen Entwicklungsstadien des Wirtes, Kenntnis der Morphologie und des Formenwechsels der Symbionten auf Grund mikrobiologischer Färbemethoden und Nachweis der Art der Übertragung des Symbionten auf die Nachkommen. Die Kultur als einziges Kriterium ist ein viel zu kompliziertes Problem. Denn — wie gesagt — ist es einerseits unter Umständen schwierig, Fremdkeime fernzuhalten, während andererseits sich viele Symbionten, mit den gebräuchlichen bakteriologischen Methoden nicht züchten lassen. Zum Nachweis der Identität von gezüchteten Bakterien mit den Symbionten können serologische Methoden herangezogen werden, worauf unter anderem GUBLER und KELLER hinwiesen.

Zusammenfassung

Es wird über bakteriologische Untersuchungen am Tracheensystem und der Hämolymphe einiger Insekten, sowie über Infektionsversuche berichtet. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen.

1. Die Tracheen der Insekten enthalten Bakterien, die im allgemeinen mit denen der Umgebung übereinstimmen.
2. Eine Besiedlung mit Keimen der Umgebung läßt sich experimentell erzeugen.
3. Auch die Hämolymphe kann Bakterien enthalten, ohne daß eine Erkrankung des Insektes zu beobachten wäre.
4. Der Bakteriengehalt von Tracheen und Hämolymphe erhöht sich bei Befall der Tracheen mit parasitierenden Milben.

5. Zwischen den Bakterien der Tracheen und der Hämolymphe scheint ein Zusammenhang zu bestehen, der besonders deutlich beim Tracheenparasitismus zutage tritt, während die in der Hämolymphe gefundenen Keime meist keinen deutlichen Zusammenhang mit denen der Darmflora erkennen lassen.

6. Auf die besondere Bedeutung des Bakteriengehaltes von Tracheen und Hämolymphe für die Symbioseforschung wird abschließend hingewiesen.

Literatur

- ARMBRUSTER, L.: Zur Acarapisfrage. Arch. Bienenkde 7, 313—327 (1926). — ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 26, 529—590 (1932). — BABERS, F. H.: Septicemia of the southern army worm, caused by *Bacillus cereus*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 31, 371—373 (1938). — BAUMGÄRTEL, Tr.: Mikrobielle Symbiosen. Jena 1942. — Mikrobielle Symbiosen im Pflanzen- und Tierreich. Wissenschaft 94 (1946). — BENEDEK, T., u. G. SPECHT: Mykologisch-bakteriologische Untersuchungen über Pilze und Bakterien als Symbionten in Kerbtieren. Zbl. Bakter. I Orig. 130, 74—90 (1933). — BERGEY's: Manual of determinativ bacteriology, 6. Aufl. Baltimore 1948. — BORCHERT, A.: Die seuchenhaften Krankheiten der Honigbiene. Berlin 1926. — Untersuchungen an der Acarapismilbe. Z. Parasitenkde 4, 331—368 (1932). — Über die Acarapis-Milbe, sowie über das Problem ihrer Bekämpfung. Z. Parasitenkde. 12, 86—93 (1940). — BROWN, F. M.: Descriptions of new bacterias found in insects. Ann. Mus. Novitates 251, 11 (1927). — BRÜNNICH, K.: Zum Atemmechanismus der Insekten, speziell der Bienen. Arch. Bienenkde 3, 154—160 (1922). — BUCHNER, P.: Tier und Pflanze in Symbiose, 2. Aufl. Berlin 1930. — Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen, 2. Aufl. Berlin 1949. — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel u. Stuttgart 1953. — CAMERON, G. R.: Inflammation in the caterpillars of Lepidoptera. J. of Path. 38, 441—466 (1934). Zit. nach STEINHAUS. — CHRISTENSEN, H. R.: Bodenbeschaffenheit und Bakterien. Zbl. Bakter. II Orig. 59, 266 (1923). — DEEGENER, P.: Das Tracheensystem der Insekten. In SCHROEDERS Handbuch der Entomologie. Jena 1928. — DEN DOOREN DE JONG: Studien über Bakteriologie. Zbl. Bakter. 120, 1—23. — DORNER, W.: Methoden zur Untersuchung von Bakterienkulturen. (Manual of pure culture study of bacterias.) Hannover 1933. — DREHER, K.: Bau und Entwicklung des Atmungssystems der Honigbiene. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 31, 608—672 (1936). — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intrazellulären Symbionten von *Pseudococcus citri*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 41, 78—146 (1952). — GOTTHEIL, O.: Systematische Untersuchungen über die Bakterien des Ackerbodens. Zbl. Bakter. II 7, 589—633 (1901). — GRÄBNER, K. E.: Vergleichend morphologische und physiologische Studien an Anobiiden- und Cerambyciden-Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 42, 472—528 (1954). — GÜBLER, H. U.: Versuche über die Züchtung intrazellulärer Insektensymbioten. Diss. Zürich 1947. — HUNKELER, M.: Untersuchungen über die Darmbakterienflora der Honigbiene. Diss. Zürich 1925. — JANKE, A.: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Dresden u. Leipzig 1946. — KELLER, H.: Bakteriologische Untersuchungen an der Grillendarmflora und intrazellulären Bakterien von *Pelomyxa palustris* GREEF. Diss. Erlangen 1949. — KOCH, A.: Über das Vorkommen von Mitochondrien in Mycetomen. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 19, 259—290 (1930). — Über das Verhalten symbiontenfreier *Sitotrupa*-Larven. Biol. Zbl. 53, 199—203 (1933). — Fünfzig Jahre Erforschung der

Insektensymbiosen. Naturwiss. **37**, 313—317 (1950). — LEHMANN, K. B., u. R. O., NEUMANN: Bakteriologische Diagnostik. München 1926/27. — LIESKE, R.: Strahlenpilze (Aktinomyceten). Mikrokosmos **39**, 10, 220 (1950). — LINGERKEN, H. v.: Das Tierreich, Bd. IV/3 Insekten. Berlin 1953. — LILLY, J. H.: Preliminary study of the presence of bacteria in the blood of house-fly. Univ. of Wisconsin. B. S. Thesis 1931. Zit. nach STEINHAUS. — MAASSEN, A., u. H. BEHN: Bakteriologische Bodenuntersuchungen. Zbl. Bakter. II Orig. **62**, 180 (1939). — MARCU, O.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Tracheen. Zool. Anz. **89**, 186—189 (1930). — McCRAY, A. H., and G. F. WHITE: The diagnosis of bee diseases by laboratory methods. U. S. Dep. Agric., Bull. No 671, 1918. — METALNIKOV, S.: L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles galleria mellonella. Monogr. Inst. Pasteur, Paris 1927. — MEYER, R.: Mikrobiologisches Praktikum. Wolfenbüttel u. Hannover 1948. — Die Rolle der Mikroorganismen im Humushaushalt des Bodens. Mikrokosmos **40**, 3, 57 (1950). — MEYN, A.: Bestimmungsschlüssel für die Gattungszugehörigkeit von Bakterien. Stuttgart 1952. — MORGENTHAUER, O.: Ein Jahrzehnt Milbenkrankheit der Honigbiene. Z. angew. Entomol. **19**, H. 3 (1932). — MÜLLER, R.: Medizinische Mikrobiologie. München u. Berlin 1950. — PAILLOT, A.: L'infection chez les insectes. Trévoux 1933. Zit. nach STEINHAUS. — PFEIFFER, H., u. H. J. STAMMER: Pathogenes Leuchten bei Insekten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **20**, 136—171 (1930). — PRELL, H.: Beitrag zur Kenntnis der Milbenseuche der Honigbiene. Arch. Bienenkunde **8**, 241—273 (1927). — RIPPPEL-BALDES, A.: Grundriß der Mikrobiologie. Berlin u. Göttingen 1947. — ROKITZKA, A.: Allgemeine Mikrobiologie. München 1949. — SACHS, H. G.: Bienenfeind Nr. 1. Mikrokosmos **42**, 121—124, 248—251 (1953). — SCHANDERL, H.: Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage. Stuttgart 1947. — Über die Hefesymbiose der Cerambyciden und Aphiden. Verh. dtsh. Zool. **1950**, 252—256. — SCHÖNICHEN, W.: Praktikum der Insektenkunde. Jena 1930. — STAMMER, H. J.: Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. Tijdschr. Entomol. Deel **95**, 23—40 (1952). — STEINHAUS, E. A.: Insect Microbiology. New York 1946. — Principles of Insect Pathology. New York 1949. — TAUBER, O. E., and J. T. GRIFFITHS: Isolation of Staphylococcus albus from hemolymph of the roach Blatta orientalis. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **51**, 45—47 (1942). Zit. nach STEINHAUS. — WALLENFELS, K.: Symbiose und Antibiose. Chemie **1945**, 1—16. — WEBER, H.: Lehrbuch der Entomologie. Jena 1933. — WHITE, G. F.: The bacteria of the apiary with special reference to bee diseases. U. S. Dept. Agric. Bull. v. Entomol. Techn. Bull. **1906**, 14. — WHITE, G. F., and P. BRUCE: The normal bacterial flora of the bee. Aberdeen 1921. — WOHLGEMUTH, O. E.: Die Atemmale der Honigbiene. Diss. Erlangen 1929. — ZANDER, E.: Der Bau der Biene. Stuttgart 1946. — Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Biene. Stuttgart 1947.

Dr. WERNER FEKL, Erlangen, Zoologisches Institut, Universitätsstr. 19

EXPERIMENTELLE STUDIEN AN DER SYMBIOSE VON
COPTOSOMA SCUTELLATUM GEOFFR. (HEM. HETEROPT.)*

Von

H. J. MÜLLER

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Oktober 1955)

Einleitung

Die Entdeckung einer Bakteriensymbiose bei der Plataspide *Coptosoma scutellatum* GEOFFR. durch G. SCHNEIDER lieferte der Symbioseforschung 1940 erstmals ein geeignetes Objekt für experimentelle Untersuchungen auch an symbiontenführenden Pflanzensaftsaugern. Die — wie bei der Mehrzahl der übrigen Wanzen — den sog. Kryptendarm besiedelnden symbiontischen Bakterien werden nämlich zur Übertragung auf die Nachkommen nicht wie bei jenen einfach auf die Eioberfläche geschmiert, sondern, jeweils von einer gelatinösen Kapsel umhüllt, isoliert zwischen je zwei Eier des zweizeiligen Geleges abgesetzt. Zur Sprengung der Symbiose ist es also nur nötig, diese Symbiontenpakete vor dem Schlüpfen der Eier wegzunehmen, um die Junglarven am normalen Aussaugen derselben zu hindern. So kann man hier einfacher und müheloser symbiontenfreie Tiere erhalten als es durch äußere Sterilisation symbiontenbeschmierter Eier mit bactericiden Agentien, etwa beim Brotkäfer (*Sitotrepa panicea*) oder bei der blutsaugenden Wanze *Rhodnius prolixus* (KOCH bzw. BRECHER und WIGGLESWORTH), möglich ist.

Nach den ersten tastenden Versuchen des Entdeckers G. SCHNEIDER begann ich deshalb kurz vor Ausbruch des zweiten Weltkrieges im Zoologischen Institut der Universität Leipzig mit Unterstützung des damaligen Reichsforschungsrates ausgedehnte Versuchsserien mit dem Ziel, symbiontenfreie *Coptosoma*-Stämme zu erziehen, etwaige Ausfallserscheinungen an ihnen zu beobachten und diese gegebenenfalls durch Reinfektion mit in vitro kultivierten *Coptosoma*-eigenen bzw. -fremden Symbionten oder gar saprophytischen Bakterien wieder zu beheben oder aber durch eine geeignete Diät mehr oder weniger zu kompensieren, um auf diesem Wege Näheres über die Beziehungen zwischen den beiden Symbiosepartnern zu erfahren. Die Kriegsverhältnisse erzwangen jedoch sehr bald eine erhebliche Einschränkung und schließlich den völligen Abbruch der ersten bereits vielversprechenden Versuche. Veränderte Lebens- und Arbeitsverhältnisse gestatteten auch nach dem Kriege nur noch einige wenige Kontrollserien. Da aber auch in Zukunft für mich

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

kaum Aussicht besteht, die Untersuchungen mit der erforderlichen Intensität und Breite fortzusetzen, habe ich mich zur abschließenden Bearbeitung und Veröffentlichung der außerordentlich lückenhaften und in vieler Hinsicht der Ergänzung und Nachprüfung bedürftigen Befunde entschlossen, vornehmlich aus zwei Gründen. Einmal hat der Initiator und Förderer meiner Symbiosestudien, mein hochverehrter Lehrer, Professor Dr. PAUL BUCHNER, in verschiedenen zusammenfassenden Symbiosedarstellungen (1940, 1943, 1953 u. a. O.) die vorläufigen Ergebnisse der *Coptosoma*-Versuche bereits mitgeteilt, so daß ihre endliche Originalbeschreibung längst fällig ist, zum anderen darf mein Zögern die Weiterarbeit anderer an dem in vieler Hinsicht idealen Objekt nicht länger mehr hemmen, zumal insbesondere KOCH und seine Schüler im letzten Jahrzehnt die Physiologie der Insektensymbiosen so erfolgreich vorangetrieben haben, daß die Inangriffnahme der *Coptosoma*-Symbiose mit modernen Methoden unerläßlich erscheint. Vielleicht können die hier vorgelegten Studien dafür wenigstens einige nützliche Hinweise liefern.

Eine eingehende Schilderung der *Coptosoma*-Symbiose hat G. SCHNEIDER (1940) gegeben, so daß hier auf Einzelheiten nicht eingegangen zu werden braucht. Die Symbionten, ziemlich pleomorphe, kugelige bis kurzschlauchförmige Bakterien, leben im Lumen des Mitteldarmes, dessen innere Oberfläche Kryptenbildungen zeigt, wie sie ähnlich bei anderen symbiontenführenden Heteropteren, z. B. Pentatomiden und Coreiden die Regel sind. Beim Weibchen werden in besonderen vergrößerten Endkrypten die kokkenförmigen Übertragungsformen ausgebildet. Der anschließende „magenartige Teil“ des Mitteldarmes liefert in seinem vorderen schlauchförmigen Abschnitt ein eosinophiles Sekret, das den Übertragungsformen beigemischt wird (Füllsekret), während der hintere, kugelig aufgetriebene Abschnitt („Magenblase“ SCHNEIDERS) das ebenfalls eosinophile, eigentliche Hüllsekret produziert, das die erwähnten gelatinösen Symbiontenkapseln bildet (vgl. Abb. 3a) und mittels einer Kalotte starker Ringmuskulatur Formung und Trennung der einzelnen Symbiontenpakete besorgt, wogegen dem Rectum nur ausleitende Funktion zufällt. Die Junglarven infizieren sich unmittelbar nach dem Verlassen der Eier durch Aufsaugen der Infektionsformen aus den Symbiontenpaketen.

Material und Methoden

Die Hauptversuche (1939/40) wurden mit einem Material von 3600 Eiern begonnen. Diese stammten von rund 150 Imagines, welche Ende Juni 1939 an dem von mir entdeckten und von G. SCHNEIDER bereits näher geschilderten Fundplatz bei Röglitz (westlich Schkeuditz) von *Coronilla varia* gestreift wurden. Die Wanzen ließen sich in kleinen zylindrischen Zuchtgläsern ($\varnothing$ 5 cm, h 7 cm) an *Coronilla varia* oder *Vicia (villosa, sepium, cracca)* leicht halten und legten in den folgenden Wochen bis Ende Juli — Anfang August an die Fiederblättchen oder die Gazedeckel

der Zuchtgläser willig ihre zweizeiligen Gelege ab, aus denen rund 3000 Junglarven schlüpften. Das Material zu den Wiederholungs- und Ergänzungsversuchen 1951/52 stammte von 15 am Südabhang des Kyffhäusers bei Frankenhausen am 24. 6. von *Coronilla varia* gesammelten Imagines. Diese wurden u. a. auch an *Vicia faba* mit gutem Erfolg gehalten und lieferten bis Anfang August insgesamt etwa 420 Eier, von denen 388 schlüpften. Die Aufzucht der Larven erfolgte an *Coronilla varia* und verschiedenen *Vicia*-Arten, teilweise auch an *Medicago sativa*, außerhalb der Vegetationsperiode vorwiegend an jungen Zottelwicken (*Vicia villosa*), die durch fortlaufende Aussaaten in Blumentöpfen jederzeit verfügbar waren. Um eine häufige (im Anfang 1—2tägige) Kontrolle der Zucht zu ermöglichen, wurden die Larven — zumindest solange sie noch klein und schwer zu sehen waren — in recht kleinen Zuchtgefäßen ($\varnothing$ 3 bzw. 5 cm) gehalten, deren Boden mit einem mäßig befeuchteten Fließpapier und reichlich lose eingelegten Futterpflanzen bedeckt war, so daß beim Futterwechsel nicht allzuviel Material abzusuchen war. Besser gedeihen die Larven freilich an Futterpflanzen, die in Erde oder Sand wurzeln, jedoch ist an diesen die Kontrolle, d. h. das Wiederfinden besonders junger Larven, sehr erschwert. Da die Larven, besonders die jüngeren, im Freien in Bodennähe, im Winter sogar in der obersten Bodenschicht leben, bedürfen sie hoher Luftfeuchtigkeit. Dabei in der Gefangenschaft Schimmelbildung und Bakterienwuchs zu vermeiden, ist freilich meist schwierig und erfordert relativ häufige Reinigung der Zuchtgefäße und regelmäßigen Futterwechsel, womit wiederum — besonders während der Einwinterung — unerwünschte Störungen der Tiere verbunden sind. 1951/52 erwies sich deshalb die Haltung auf Hygrostaten von gewissem Vorteil. Das Umsetzen der jüngeren Larven erfolgte mit einem etwas angefeuchteten Pinsel, später mit der Federstahlpinzette. Die geschilderten Zuchtbedingungen sind jedoch insbesondere für die Larven keineswegs ideal; vor allem bereitet die Überwinterung Schwierigkeiten, so daß die Absterberate auch in den Zuchten mit symbiontenführenden Normaltieren relativ hoch war (s. Abb. 2b). 1951/52 wurden die Zuchten im Winter (Ende November 1952 bis 1. März 1953) an eingetopften *Vicia villosa*-Pflanzen mit etwas besserem Erfolg im Kalthaus gehalten. Es entstanden jedoch dann beim Übergang zur erneuten Warmhaltung ebenfalls größere Verluste, vielleicht weil er zu rasch erfolgte.

Bei der zeitraubenden Pflege und Kontrolle der besonders im Anfang zahlreichen (über 50) Larvenzuchten half mir 1939/40 meine Frau mit großer Geduld und Gewissenhaftigkeit. Ihr habe ich vor allem die getreuliche Weiterführung der Zuchten zu Beginn des Krieges zu danken, als ich schon mehrfach lange Zeit daran gehindert war, so daß ohne ihren Einsatz selbst die vorliegenden Ergebnisse nicht möglich geworden wären. Für gewissenhafte Hilfe bei der Pflege der Zuchten 1951/52 habe ich meinen Mitarbeiterinnen Frä. M. STRAUB und E. SIMON zu danken.

Weitere methodisch-technische Einzelheiten sind aus Zweckmäßigkeitsgründen an den Beginn der einzelnen Kapitel verwiesen.

Versuchsbefunde

Die Sprengung der Symbiose

Die Wegnahme der Symbiontenpakete kann natürlich zu jedem beliebigen Zeitpunkt vor dem Schlüpfen der Junglarven erfolgen, jedoch ist es besser, wenigstens eine gewisse Aushärtung der anfangs empfindlichen Gelege abzuwarten. Die von G. SCHNEIDER bereits eingehend beschriebenen Eier und Symbiontenkapseln sind mit einem farblosen

Sekret untereinander und auf der Unterlage, normalerweise einem Fiederblättchen von *Coronilla*, angeklebt. Zwar fällt es nicht schwer, sie mit Präpariernadeln, am besten einer flachen Lanzette, abzusprengen und voneinander zu trennen, doch ist dabei das Zerreißen der Symbiontenpakete nicht immer zu vermeiden. So ist es besser, zunächst das Haftsekret durch einfaches Befeuchten der Gelege mit einem wassergetränkten Pinsel zu erweichen. Schon nach kurzer Zeit lösen sich dann Eier und Symbiontenballen voneinander und vom Substrat und können unbeschädigt mit dem Pinsel getrennt werden. (Vielleicht ist diese leichte Wasserlöslichkeit des Haftsekrets der Gelege ein Grund dafür, daß *Coptosoma scutellatum* nur in xerothermen Gebieten vorkommen kann, wo die Gelege nicht zu leicht abgelöst und weggespült werden können!). Die isolierten Eier wurden sogleich mit dem hinteren Pol auf leicht feucht gehaltenes Filtrierpapier gesetzt, wo sie wieder ankleben und nach der normalen Entwicklungszeit (etwa 2—3 Wochen) schlüpfen. Die abgesammelten Symbiontenballen dienten zum Ausstrich auf Agarplatten oder zu anderen Versuchen (s. unten).

Das Verhalten der Junglarven nach dem Schlüpfen

Bei den intrazellularen Symbiosen sind die Lebenszyklen von Wirt und Symbionten anatomisch so eng miteinander verflochten, daß an keiner Stelle Symbionten verlorengehen können. Von Wirtszelle zu Wirtszelle, und in den Eiern bzw. Embryonen auch über Generationen hinweg, werden sie weitergereicht, ohne daß sie je aus dem Wirtorganismus herausgeraten können. Läuft bei ihnen also die symbiontische Gemeinschaft ohne aktives Mitwirken der Wirte ununterbrochen von Generation zu Generation weiter, so ist bei den Darmsymbiosen stets an einer Stelle eine Lücke, die nur durch das richtige Verhalten des meist jungen Tieres selbst — also aktiv, wenn auch natürlich unbewußt — geschlossen werden kann. Bei Darmsymbiontenträgern mit beißenden Mundwerkzeugen (vielen Käfern, Holzwespen u. a.) geschieht das gewissermaßen zwangsläufig beim Durchbeißen oder Verzehren der äußerlich mit Symbionten beschmierten Eihüllen. Anders bei den Hemipteren, die wie *Coptosoma* das Ei mit Hilfe von Eischalensprengern verlassen und auch nach dem völligen Schlüpfen zunächst noch symbiontenfrei bleiben, weil die saugenden Mundwerkzeuge dabei gar nicht mit den Symbionten in Kontakt kommen können. Erst durch ihr weiteres artgemäßes, instinktiv richtiges Verhalten werden sie zur Aufnahme der Symbionten veranlaßt, indem sie, wie auch die Pentatomiden-Junglarven, mit dem Rostrum die Eioberfläche abtasten und die dort aufgeschmierten Symbionten aktiv aufsaugen, sich so infizieren und damit den gelockerten symbiontischen Konnex wieder fester knüpfen. Es ist leicht vorstellbar, daß sie auch in der Natur durch mancherlei Zwischen-

fälle an dieser regulären Symbiontenaufnahme gehindert werden können und die symbiontische Gemeinschaft so unterbrochen wird, ein Ereignis, das bei intrazellulärer Symbiontenvererbung ausgeschlossen ist. In der Tat haben sich — wie wir unten zeigen werden — auch in den Kontrollzuchten, denen beim Schlüpfen ihre Symbiontenpakete vollständig belassen worden waren, einzelne Tiere nachweisen lassen, die offensichtlich keine Symbionten aufgenommen hatten. Schon die Tatsache, daß in einem normalen Gelege von 6—12 Eiern stets nur halb soviel Symbiontenpakete wie Eier vorhanden sind — zwischen je zwei benachbarten Eiern immer nur eins —, läßt solche Zwischenfälle leicht vorstellbar erscheinen. Darüber hinaus verzeichnet schon SCHNEIDER gröbere Unregelmäßigkeiten und oft einzeln abgelegte Eier, denen ein Symbiontenpaket fehlt, so daß sich die schlüpfende Junglarve gar nicht infizieren kann. Dasselbe konnten wir häufig bestätigen.

Wie sicher aber auch dieses auf dem offenbar erblich verankerten Verhalten der Wirte beruhende Glied der symbiontischen Zyklen im allgemeinen funktioniert, zeigte der Vergleich im Verhalten von Eilarven, die nach dem Schlüpfen ihren Symbiontenballen ungehindert vorfanden, mit solchen, denen er vorher weggenommen wurde. Sehr bald nach dem beendeten Schlüpfen, nach einer Ruhepause von 10—15 min, beginnen die Junglarven, anfangs zögernd, später lebhafter auf dem Gelege umherzuwandern und dabei mit ihrem Rostrum die Eier zu betasten. Insbesondere fahren sie damit häufig an den Eiseiten herab und stechen zwischen die Spalträume der benachbarten Eier hinein. Bei diesem Umherstochern treffen sie dann früher oder später, meist überraschend bald und beinahe zwangsläufig mit der Rüsselspitze auf die in der Tiefe zwischen den Eiern etwas verborgen liegenden Symbiontenpakete. Wie SCHNEIDER beklagt, kann man das Auffinden und anschließende Ausaugen derselben durch die Junglarven an normalen Gelegen wegen dieser unseren Blicken etwas verdeckten Situation nur ungenau beobachten. An einzelnen Eiern mit Symbiontenpaketen oder halbierten Gelegen und bei leichter Verkantung des Substrates ist das aber, wie Abb. 1 zeigt, durchaus möglich. Während diejenigen Larven, die einen Symbiontenballen mit der Rüsselspitze ertastet und angestochen haben, ihre Ruhelosigkeit sofort verlieren und offensichtlich saugend ruhig auf dem entsprechenden Ei sitzen bleiben, bis sie nach 30—105 min offenbar „gesättigt“ das Gelege verlassen und bald in der Nähe, normalerweise auf einem Blatt der Wirtspflanze, zur Ruhe kommen, fahren die erfolglosen mit dem rastlosen Suchen pausenlos und mit oft noch deutlich zunehmender Hast fort.

Ununterbrochene Beobachtungen an einer Reihe von frischgeschlüpfen Larven, von deren Gelege die Symbiontenpakete entfernt waren, enthüllten die ganze Starrheit ererbter Instinktabläufe. Die Tiere liefen,

von unsichtbarer Gewalt getrieben, stundenlang stochernd auf den leeren Gelegen bzw. ihrer Eischale umher. In einem Falle wurde der Versuch nach nahezu 4 Std abgebrochen, ohne daß die Larve schon zur Ruhe gekommen wäre. Gerieten sie dabei von den Eiern herunter, so kehrten sie zunächst meist bald wieder darauf zurück, offenbar weil sie nur das Ei als den ihnen gemäßen Platz empfinden, solange sie noch keine Symbionten gefunden haben. Später — nach Stunden — nahmen

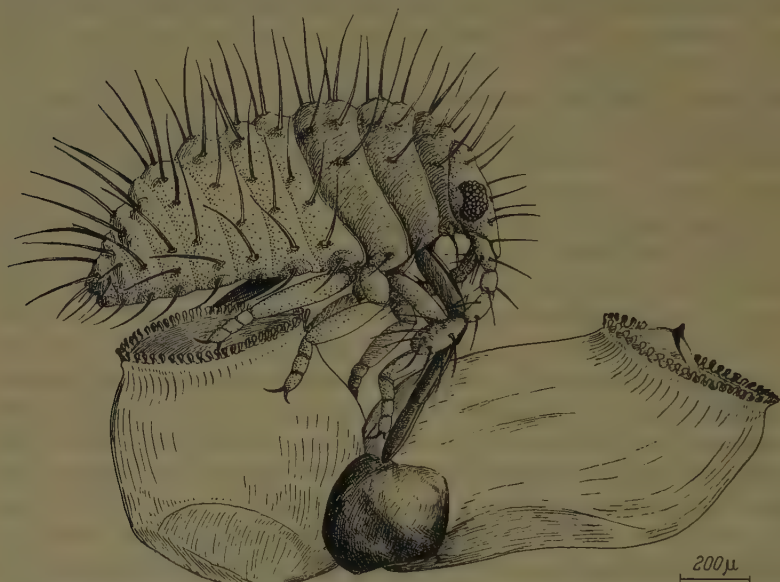


Abb. 1. Frisch geschlüpfte Junglarve von *Coptosoma scutellatum* GEOFFR. beim Besaugen des Symbiontenballens zwischen zwei Eiern eines Geleges

sie aber auch künstlich dargebotene Eier nicht mehr an, sondern irrten ruhelos und scheinbar ziellos umher. Das Suchen nach dem Symbiontenpaket mit den dazugehörigen Instinktbewegungen läuft also fast bis zur Erschöpfung weiter, wenn das Ziel nicht erreicht wird. Aber das Ziel, das Symbiontenpaket, kann nur wahrgenommen werden, wenn die Larve auf dem Gelege oder wenigstens auf einem Ei sitzt. In keinem Falle wurden Symbiontenballen besogen, die dem Symbiontenballen suchenden Tier außerhalb des Geleges bzw. Eies angeboten wurden, obwohl sie sie mit Fühlern und Beinen immer wieder berührten. Stets liefen diese Larven unbekümmert alsbald weiter, wenn sie bei ihren Exkursionen vom Gelege auf einen der künstlich in der Nähe plazierte Symbiontenballen stießen. Immer aber fanden und besogen sie das Symbiontenpaket binnen weniger Minuten, wenn sie dabei auf dem Gelege oder einem einzelnen Ei saßen; auch dann, wenn sie zuvor 2—3 Std auf dem leeren

Ei vergeblich gesucht hatten, weil der Symbiontenballen solange entfernt worden war. Offenbar weist der Symbiontenballen für sie keine den Anstich auslösenden Reize auf, solange sie nicht gleichzeitig mit der Eischale Kontakt haben. Er wird also offenbar weder visuell, noch olfaktorisch wahrgenommen, sondern nur ertastet, wobei vermutlich gleichzeitig Tasteindrücke der Eischale einwirken müssen. Es ist ja unter normalen Umständen auch völlig unwahrscheinlich, daß eine *Coptosoma*-Larve entfernt von ihrem Gelege auf einen Symbiontenballen stößt.

Dieses Verhalten zeigt mit aller Deutlichkeit, wie auch im Falle einer extrazellularen Darmsymbiose mit Hilfe eines starren Instinktmechanismus die aktive Aufnahme der vom Muttertier nach außen abgesetzten Symbionten durch die Nachkommen gesichert, ja quasi erzwungen wird, so daß praktisch unter normalen Umständen keine Versager vorkommen können. Artspezifische Instinktbewegungen stehen also hier völlig im Dienste eines symbiontischen Verhältnisses. Da pflanzensäftesaugende Hemipteren, abgesehen von gelegentlichem Probieren, ausschließlich pflanzliches Gewebe besaugen, ist dieses Verhalten der Eilarven von *Coptosoma* — und ähnlich das anderer Wanzen — nur als Ergebnis eines komplizierten Selektionsvorganges vorstellbar, bei dem das Bestehen bzw. Erhaltenbleiben einer Bakteriensymbiose offenbar einen Vorteil für die Insekten darstellte.

Das beobachtete Verhalten der *Coptosoma*-Junglarven zu ihren Symbiontenballen gibt daneben für experimentelle Studien die Gewähr, daß Symbionten und wohl auch andere Mikroorganismen nur dann in hinreichender Menge aufgenommen werden können, solange und wenn sich die Larven in normaler Weise auf ihren Gelegen befinden. Eine spätere aktive oder passive Reinfektion steriler Larven — wie sie bei *Rhodnius* und *Triatoma* beobachtet wurde — erscheint schlechterdings ausgeschlossen. Histologische Kontrollen zeigen, daß vor dem Schlüpfen ihrer Symbiontenkapseln beraubte *Coptosoma*-Larven tatsächlich ausnahmslos steril sind und bleiben (s. auch G. SCHNEIDER 1940).

Die Entwicklung symbiontenfreier Larven

Schließlich kommen nach vielstündigem vergeblichen Suchen und Umherwandern auch diejenigen Eilarven zur Ruhe, von deren Gelegen die Symbiontenpakete entfernt worden waren, so daß sie also keine Symbionten aufnehmen konnten. Im Juli und August 1939 wurden in 6 Zuchten insgesamt 316 solcher „steriler“ Junglarven und 1951 in 2 Zuchten 117 ebensolche L₁ an normalen Nährpflanzen, meist *Vicia villosa*, *cracca*, *angustifolia* usw., später auch an Luzerne angesetzt und unter häufiger Kontrolle weiter aufgezogen. Zum Vergleich wurden zur gleichen Zeit 1939 6 Zuchten mit insgesamt 249, 1951 2 Zuchten mit 43

„normalen“ L_1 begonnen, die in normaler Weise Gelegenheit zum Aufsaugen von Symbionten aus ihren Symbiontenballen gehabt hatten. Sie wurden an den gleichen Futterpflanzen und auch unter sonst gleichen Bedingungen aufgezogen und behandelt. Histologische Kontrollen zeigten, daß die „sterilen“ Larven niemals Symbionten beherbergten, die „normalen“ bis auf eine Ausnahme stets. Auf histologische Einzelheiten kann im Rahmen dieser Studien nicht eingegangen werden.

Der Entwicklungsverlauf dieser „sterilen“ und „normalen“ Larven weist nun in mehrfacher Hinsicht erhebliche Unterschiede auf, wie bereits ohne weiteres aus den Zucht diagrammen (Abb. 2a und b) zu entnehmen ist. Darin findet sich zunächst jeweils eine ausgezogene Kurve, die angibt, wieviel Prozent der zu Beginn in Zucht genommenen *Coptosoma*-Larven an jedem beliebigen Tage nach Zuchtbeginn, d. h. der Geburt der Larven, noch lebten, die also praktisch den Verlauf der Absterberate darstellt. Die Kurve dieser Absterberate führt auch bei den normalen Larven verhältnismäßig steil abwärts, offenbar als Folge der den biologischen Anforderungen nicht völlig genügenden Zuchtverhältnisse (s. oben S. 461). Während aber z. B. von den „Normalen“ am 30. Zuchttag noch über 62, am 60. 47,5 und am 140. (d. h. zu Beginn der Winterruhe) noch 34,5% aller angesetzten Larven leben, sind an den gleichen Tagen nur jeweils noch 38,5, 24,2 und 10,8% der symbiontenfreien Tiere vorhanden. Die Sterblichkeit der „Sterilen“ ist also erheblich größer, besonders während des ersten Larvenstadiums, in dessen Verlauf sie bereits 55% übersteigt (gemessen in dem Zeitpunkt, zu dem 50% der Larven das L_2 -Stadium erreicht hatten), wogegen sie bei den „Normalen“ im gleichen Entwicklungszeitraum nur knapp 30% beträgt. Später sind die Unterschiede nicht mehr so groß, wie der flachere Verlauf der Absterbekurve bei „Normalen“ und „Sterilen“ ausweist, vielleicht weil sich der Stoffwechsel der Symbiontenlosen dann allmählich auf den Symbiontenmangel eingestellt hat.

Neben dieser — zumindest unter den Bedingungen der Aufzucht in Gefangenschaft — erheblich gesteigerten Sterblichkeit fällt die außerordentliche *Verzögerung des Entwicklungstempos* der symbiontenfreien Larven gegenüber den Normaltieren auf. Die Diagramme bringen für jeden Zuchttag den Prozentsatz der Larven in den verschiedenen Stadien zur Darstellung und lassen ohne weiteres erkennen, daß bis zum Eintritt einer (offenbar normalen) Diapause zu Beginn des Winters (während des III. und IV. Larvenstadiums) die Symbiontenlosen um ein bis zwei Entwicklungsstadien hinter den Normaltieren nachhinken. So erreichten die ersten normalen Larven das zweite Larvenstadium bereits am 10., das dritte am 18. und das vierte am 34. Zuchttag, die „Sterilen“ dagegen erst am 17., 33. bzw. 65. Tage; sie benötigten also beinahe die doppelte Zeit. Die letzte L_1 häutete sich bei den normalen

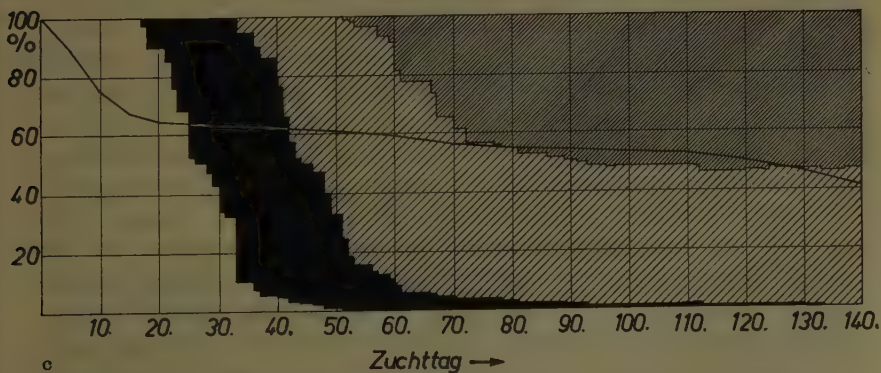
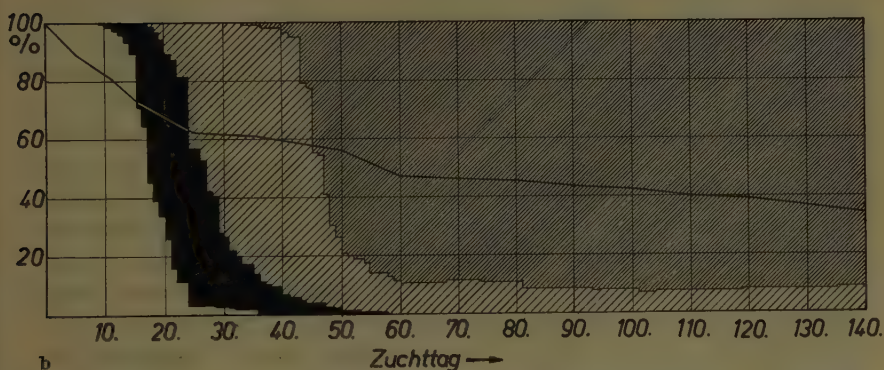
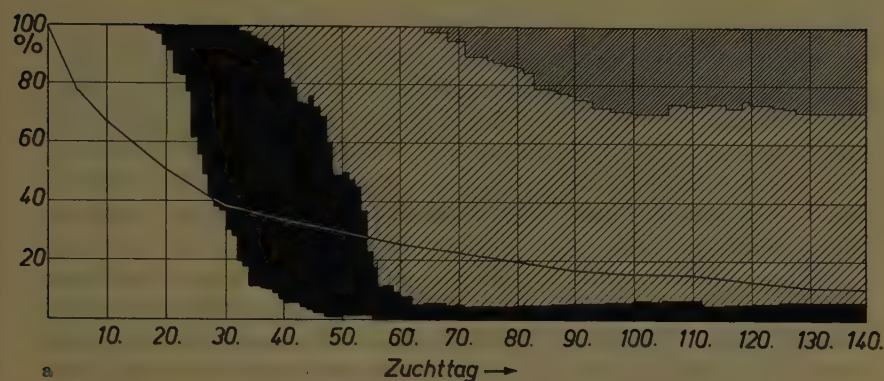


Abb. 2a—c. Graphische Darstellung des jeweiligen prozentualen Anteils der einzelnen Larvenstadien von *Coptosoma scutellatum* GEOFFR. an den einzelnen Aufzuchttagen während der vorwinterlichen Entwicklung verschiedener Populationen (1939/40). L₁ weiß, L₂ schwarz, L₃ einfach schraffiert, L₄ doppelt schraffiert. a (oben): Entwicklung symbiontenfreier Larven an normalen, erwachsenen Wirtspflanzen. b (Mitte): Entwicklung normaler symbiontenführender Larven an normalen, erwachsenen Wirtspflanzen. c (unten): Entwicklung symbiontenfreier Larven an eben ergrünenden Keimlingen von *Vicia villosa*. Die ausgezogenen Kurven geben die jeweilige Größe der Population in Prozent der Ausgangspopulation an (Kurve der Absterberate)

Larven am 37., bei den sterilen am 56. Zuchttag. Die letzte Häutung zum dritten Larvenstadium vollzog sich bei den Symbiontenträgern am 59. Tage. Bei den Symbiontenfreien erreichten einzelne L_2 diesen Entwicklungsschritt bis zur Überwinterung überhaupt nicht. Betrug der Prozentsatz der L_4 zu Beginn der Winterruhe fast 90% der überlebenden Symbiontenträger, so lag der Wert für die „Sterilen“ bei nur rund 25%, da die überwiegende Mehrzahl bei ihnen noch im dritten Larvenstadium verharrte.

Wenn auch die mittlere Dauer der einzelnen Larvenstadien nicht exakt angegeben werden kann, weil die Häutungsschritte der einzelnen Larven bei der Vielzahl der Zuchttiere ohne Markierung nicht individuell verfolgt werden konnten, so erlaubt doch die prozentuale Diagrammdarstellung ohne weiteres die annähernd richtige Abschätzung der Stadienlängen aus dem Verhalten der Gesamtpopulation. Minimal- und Maximalwerte und die aus diesen sich errechnenden Mittelwerte sind aus der Tabelle 1 zu entnehmen. Geeigneter zur Begrenzung der Larvenstadienlänge erscheinen mir jedoch — schon wegen der erheblichen Streuung der Einzelwerte — die Termine, an denen jeweils 50% der lebenden Population das nächst höhere Larvenstadium erreicht hatten. Die durchschnittliche Länge des ersten und zweiten Larvenstadiums beträgt demnach bei den Symbiontenträgern 17 bzw. 10 Tage, bei den sterilen Larven dagegen 26 und 22 Tage. Das dritte Stadium dauert bei den erstgenannten etwa 20 Tage, bei den sterilen Larven ist es nicht abzuschätzen, weil es eben nur wenige Tiere vor der Winterruhe erreichten. Viel eindrucksvoller zeigt schon ein Blick auf die Diagramme, daß die Symbiontenträger bereits das dritte Larvenstadium erreicht haben, wenn die Symbiontenlosen erst in das zweite eintreten, und daß ebenso später die ersteren sich bereits schon längst im vierten Stadium befinden, wenn die letzteren in das dritte hinüberwechseln. Die *Coptosoma*-Larven wachsen also — bei gleichzeitig gesteigerter Sterblichkeit — viel langsamer, wenn sie ihrer Symbionten beraubt sind und benötigen zum Durchlaufen der ersten Larvenstadien, d. h. der vorwinterlichen Entwicklung, etwa die doppelte Zeit als im Besitze derselben. Die Angabe SCHNEIDERS, daß sie dann auch nicht die gleiche Größe erreichen, kann ich indessen nicht bestätigen; denn es ließen sich Größendifferenzen zwischen normalen und sterilen Larven in vergleichbaren Stadien nicht feststellen. Am exaktesten würde sich das durch Messung der Exuvien gleicher Stadien beweisen lassen, wie bereits einige orientierende Messungen klar zeigten. Offensichtlich ist zur Einleitung der Häutungsvorgänge auch bei *Coptosoma* jeweils ein gewisses Körpermaß notwendig, wie sich aus den Feststellungen WIGGLESWORTHS an der blutsaugenden Wanze *Rhodnius prolixus* schließen läßt, bei der ja offenbar die Dehnung der interskelettalen Muskulatur und entsprechender Sinnesorgane die

neurosekretorischen Zellen des Gehirns zur Ausschüttung des adeno-tropen Hormons stimuliert. Nur die Zeit, die zur Erreichung dieses Zustandes benötigt wird, ist bei Larven mit und ohne Symbionten sehr unterschiedlich groß.

Die Diagramme beruhen allein auf dem 1939 gezüchteten Larvenmaterial. Die Aufzuchtversuche steriler und symbiontentragernder *Coptosoma*-Larven im Jahre 1951 ergab trotz der viel geringeren Zahl der aufgezogenen Larven jedoch praktisch die gleichen Resultate, so daß deren Wiedergabe hier nur eine Wiederholung darstellen würde.

Trotz der großen Streuung in der Entwicklungsgeschwindigkeit insbesondere der symbiontenlosen Larven verhielten sich die Angehörigen der beiden Zuchtgruppen (d. h. der symbiontenfreien und der normalen, symbiontentragernden Tiere) so einheitlich, daß später selbst ohne

Tabelle 1. *Dauer der jüngeren Larvenstadien normaler und symbiontenfreier Coptosoma-Larven in Tagen*

	Larvenstadium	Normale Larven	Symbiontenfreie Larven
L ₁	minimal	9	16
	maximal	36	55
	im Mittel	22	30
L ₂	minimal	8	16
	maximal	22	—
	im Mittel	15	—
L ₃	minimal	16	32
	maximal	—	—

Kenntnis der Protokolle stets zu sagen war, welcher der beiden Gruppen eine bestimmte Zucht angehörte. Nur ganz ausnahmsweise fand sich eine Larve, die im Entwicklungstempo von ihren Genossen auffällig abwich. So fiel 1951/52 in einer Kontrollzucht ein Tier auf, das von Anfang an stark im Wachstum zurückblieb. Als seine symbiontenführenden Geschwister Anfang Mai 1952 alle längst erwachsen waren und die Weibchen zum Teil schon wieder Eier abgelegt hatten, es selbst aber immer noch im IV. Larvenstadium verharrte, wurde es fixiert. Es erwies sich bei der Zerlegung in eine Schnittserie als völlig steril und stellt offenbar einen der oben erwähnten seltenen Fälle dar, bei denen eine Junglarve durch einen besonderen (hier jedoch nicht künstlich hervorgerufenen) Umstand keine Symbionten aufnehmen konnte (siehe oben). — Umgekehrt fand sich in einem einzigen Falle in einer Zucht symbiontenfreier Larven ein Tier, das seinen Genossen im Wachstum weit vorausseilte und — wie die histologische Kontrolle ergab — einen symbiontengefüllten Kryptendarm aufwies. Glücklicherweise gestatteten die Einzelprotokolle mit einer an Gewißheit grenzenden Wahrscheinlichkeit den Nachweis, daß es an einem bestimmten Tag aus einer Kontrollzucht versehentlich eingeschleppt worden war.

Wie bereits oben erwähnt, wurden die Zuchtpopulationen in beiden Versuchsjahren durch die Schwierigkeiten der Überwinterung besonders

stark geschwächt. Eine systematische prozentuale Auswertung der Ergebnisse wie in der ersten Hälfte der Larvalentwicklung erscheint daher mit dem verbleibenden geringen Material des zweiten Teiles (d. h. nach der Überwinterung) nicht möglich. Immerhin lassen sich die gleichen Erscheinungen wie in der Jugendentwicklung auch in der späteren Entwicklung der Larven feststellen.

Anfang März 1940 lebten von den Symbiontenträgern noch 29 Larven, und zwar 1 L_3 und 28 L_4 , insgesamt 11,6% der Ausgangspopulation; von den symbiontenfreien Larven nur 11, nämlich 2 L_2 und 9 L_3 , also nur 3,5% der ursprünglichen Zahl.

Von diesen ausgewinterten Larven erreichten bei den „Normalen“ 6 (= 2,4% der Gesamtpopulation) nur das fünfte Larvenstadium, 4, nämlich 1 Männchen und 3 Weibchen (= 1,6%) das Imaginalstadium. Bei den „Sterilen“ dagegen entwickelte sich überhaupt keine bis zur Imago, nur eine bis zur L_5 (0,31%) und zwei bis zur L_4 (0,62%). Ihre Vitalität ist also auch während und nach der Überwinterung noch erheblich geschwächt. Aber auch das Tempo der Entwicklung ist weiter stark gehemmt. Bei den „Normalen“ erscheinen die ersten L_5 am 28., die Imagines am 45. Tage nach der Auswinterung (gerechnet vom 1. 3. 40), bei den Symbiontenfreien dagegen die beiden L_4 am 44. und die einzige L_5 am 92. Tage nach der Auswinterung.

Ein ganz ähnliches Bild bieten die Ergebnisse des Frühjahrs 1952. Die im Kalthaus überwinterten Zuchten wurden am 1. 2. wieder in die Wärme gebracht. Von den Normaltieren waren noch 5 L_3 und 5 L_4 vorhanden (= 23% der Ausgangspopulation), von den „Sterilen“ 15 L_2 und 14 L_3 (= 24%). Während die ersteren also bereits zur Hälfte das L_4 -Stadium vor dem Winter (am 52.—70. Tage nach Zuchtbeginn) erreicht hatten, häuteten sich die ersten symbiontenfreien Larven erst am 38. Tage nach der Überwinterung zu diesem Stadium. In der Kontrollzucht entstanden 8 (3,5) Imagines (= 18,6%), bei den Symbiontenfreien nur 3 (1,2) (= 2,6%). Auch hierbei verzögerte sich die Entwicklung der „Sterilen“ wieder erheblich. Die ersten normalen L_5 erschienen bereits am 23. Tage nach der Auswinterung, ihre symbiontenlosen Geschwister dagegen erst am 60. An diesem Tage traten bei den „Normalen“ bereits die ersten Imagines auf, die bei den Symbiontenfreien erst 28 Tage später, am 88. Zuchttag, erschienen, als sich bei den ersteren bereits frische Gelege vorfanden.

Das Imaginalstadium wurde bei den normalen, symbiontenführenden *Coptosoma*-Larven aller vorliegenden Versuche (1939/40 und 1951/52) infolge der noch sehr unvollkommenen Zuchtbedingungen zwar nur von 4,1% der angesetzten Tiere erreicht; jedoch blieben die ihrer Symbionten beraubten mit 0,7% Imagines weit hinter ihnen zurück.

Kompensationsversuche durch Fütterung an Keimlingen

Das auffallendste Resultat der bisher dargelegten Ergebnisse ist zweifellos die starke Hemmung der Entwicklungsgeschwindigkeit bei den symbiontenfreien *Coptosoma*-Larven. Die gegenüber den „Normalen“ gleichzeitig erhöhte Absterberate läßt sich bis zu einem gewissen Grade als eine Folge dieser Wachstumsverzögerung auffassen, besonders da sie in den jüngeren Stadien viel stärker hervortritt. Jüngere Larvenstadien pflegen allgemein anfälliger zu sein als ältere und je länger eine Larve in ihnen verweilt, um so länger ist sie den tödlichen Gefahren dieser Entwicklungsabschnitte ausgesetzt. So kann man in dem Mangel eines das Wachstum fördernden Prinzips die Hauptursache der gesamten, auch die Absterbequote erhöhenden Entwicklungshemmung sehen, die beim Ausfall der Symbionten entsteht. Da bei anderen, künstlich ihrer symbiontischen Mikroorganismen beraubten Insekten (z. B. bei *Sitodrepa*, *Pediculus* u. a.) ähnliche Ausfallserscheinungen unter anderem durch Wuchsstoffe der B-Gruppe weitgehend kompensiert werden konnten (KOCH, ASCHNER und RIES), lag es nahe, das gleiche bei den symbiontenfreien *Coptosoma*-Larven zu versuchen. Die Applikation solcher Wuchsstoffe ist bei den Rhynchoten freilich nicht so einfach wie bei Insekten mit beißenden Mundwerkzeugen, besonders wenn sie sich wie *Coptosoma* ohnehin nicht ganz leicht halten lassen. Unter der Voraussetzung, daß die Keimpflanzen der Leguminosen in ähnlichem Maße wie keimende Getreidesämlinge einen gegenüber erwachsenen Pflanzen erhöhten Wuchsstoffgehalt aufweisen, wurde deshalb zunächst versucht, die symbiontenfreien *Coptosoma*-Larven an *Vicia*-Keimlingen aufzuziehen, um ihnen so vielleicht mit dem von ihnen selbst aufgesogenen Nahrungssaft die fehlenden Wuchsstoffe auf eine möglichst natürliche Weise zu bieten.

Es wurden deshalb im Juli—August 1939 jeweils einige Hundert symbiontenfreie *Coptosoma*-Junglarven an jüngste (nur die Radicula entfaltet, Cotyledonen geschält), mittlere (Radicula und Plumula 1—3 cm lang, aber noch nicht ergrünt) und ältere Keimlinge (mit den ersten ergrünenden Primärblättern) von *Vicia villosa* gesetzt und unter sonst ähnlichen Bedingungen wie die normal beköstigten Larven (s. oben) gehalten und regelmäßig kontrolliert.

Die Aufzuchten an den kleinen und mittelgroßen, noch farblosen *Vicia villosa*-Keimlingen ergaben keine positive Reaktion. Sowohl die Absterberate wie auch die Verzögerung des Wachstums waren in beiden Fällen eher vergrößert als verringert. Ob das auf einen in so kleinen Keimlingen noch nicht optimal entwickelten Wuchsstoffgehalt oder auf eine diesem entgegenwirkende Verschlechterung der Lebens- und Ernährungsbedingungen für die jungen Larven zurückzuführen ist, müßte

näher nachgeprüft werden. Dagegen zeigte sich bei der Aufzucht „steriler“ Larven an den größeren, bereits ergrünenden Keimlingen eine deutliche Abnahme der Entwicklungshemmung sowohl wie der Absterbeziffer. Abb. 2c macht dies im Vergleich zu den oben aufgeführten Ergebnissen der Aufzucht normaler und symbiontenfreier Larven an normalen erwachsenen Pflanzen deutlich. Wenn auch die Keimlingsdiät die Ausfallserscheinungen nicht völlig zu kompensieren vermag, so liegen doch die Werte deutlich über denen, die von symbiontenfreien Tieren an erwachsenen Pflanzen erreicht werden.

Besonders auffällig ist schon der Verlauf der Absterbequote. Bis zum 15. Tage nach dem Schlüpfen sinkt die Kurve fast ebenso steil wie bei den Symbiontenlosen an Normalfutter auf 67,8% ab (gegenüber 57,5% bei diesen!), dann aber biegt sie stark um und hält sich, nur ganz allmählich abfallend (auf 40% am 140. Zuchttag), sogar deutlich über der Kurve der Symbiontenträger an Normalkost (die schon am 40. Tage auf 34,5% abgesunken war!). Es scheint also, als könne die durch den Verlust der Symbionten entstehende Erhöhung der Absterberate durch die Ernährung an keimenden Wirtspflanzen mehr als ausgeglichen werden. Dabei ist es verständlich, daß diese Wirkung nicht sofort, sondern offenbar erst nach einer gewissen Anlaufzeit einsetzt.

Nicht ganz so augenfällig, wenn auch deutlich genug, ist die Minderung der durch den Symbiontenverlust bedingten Entwicklungsverzögerung. Zwar ist das erste Auftreten von Häutungen vom ersten zum zweiten Stadium vom 18. und vom zweiten zum dritten Stadium vom 34. Tage an sogar um einen weiteren Tag verzögert, verschiebt sich aber bei Häutungen vom dritten zum vierten Larvenstadium vom 65. (bei normaler Kost) auf den 49. Tag (bei Keimlingsfutter). Deutlicher tritt die kompensierende Wirkung schon bei den Terminen der jeweils letzten Häutungen hervor: bei der ersten Häutung statt am 56. am 52. Tage, bei der zweiten immerhin am 134. Tage, während ja von den an erwachsenen Pflanzen gehaltenen „Sterilen“ ein Teil das dritte Larvenstadium vor dem Winter überhaupt nicht mehr erreichte. In der gleichen Richtung liegt die Tatsache, daß bei den mit Keimlingen ernährten „sterilen“ Larven über 50% das vierte Larvenstadium erreichen, während sich von den normal beköstigten nur halb so viele so weit entwickeln. Auch hinsichtlich der Dauer der einzelnen Larvenstadien kommt die durch die Keimlingsernährung bewirkte Einschränkung der durch den Symbiontenverlust bedingten Entwicklungshemmung zum Ausdruck; zwar kaum beim ersten Larvenstadium, deutlicher schon beim zweiten, wo sich das 50%-Mittel von 22 auf 18 Tage verkürzt. Weitere Einzelheiten sind dem Diagramm zu entnehmen.

Auch die Weiterentwicklung nach der Überwinterung zeigt deutlich die kompensierende Wirkung der Keimlingsernährung. Mit 65 über-

lebenden Larven (1 L_2 , 39 L_3 und 35 L_4) bietet sich trotz Fehlens der Symbionten fast das Bild der „Normalen“. Von diesen 12,6% gut überwinterten Tieren erreichen 10 (5 Männchen und 5 Weibchen) das Imaginalstadium, mit 1,93% der Ursprungspopulation also sogar etwas mehr als bei den normalen Symbiontenträgern, 12 weitere (= 2,3%) wenigstens das fünfte Larvenstadium. Die Wirkung des Symbiontenverlustes erscheint damit mehr als kompensiert. Nicht so deutlich ist wieder die Wirkung auf die Entwicklungsgeschwindigkeit. Immerhin wird das fünfte Larvenstadium statt am 92. schon am 44. Tage nach der Auswinterung erreicht; das Imaginalstadium zwar nicht vor dem 88. Tage, bei den normal ernährten „Sterilen“ ja aber eben überhaupt nicht (s. oben S. 470).

In den 1951/52 durchgeführten Versuchsserien wurden in ähnlicher Weise 146 symbiontenfreie Larven an älteren *Vicia villosa*-Keimlingen aufgezogen. Der Erfolg entsprach in der Vorwinterentwicklung durchaus den eben geschilderten Ergebnissen des Jahres 1939, dergestalt, daß sowohl die Absterbequote wie auch die Entwicklungsgeschwindigkeit fast die Werte normaler, an erwachsenen Pflanzen gehaltener Larven erreichte. Dagegen zeigte sich keine deutliche Reaktion bei den überwinterten Tieren, wofür zunächst keine Erklärung gegeben werden kann; von 46 überwinterten Larven (38 L_2 und 8 L_3) erreichten nur 3 (1 Männchen, 2 Weibchen) das Imaginalstadium. Hier müßten Wiederholungen der Versuche unter exakteren Versuchsbedingungen einsetzen. Im Rahmen dieser Versuche wurden zur Kontrolle auch normale, symbiontenführende Larven an *Vicia villosa*-Keimlingen herangezogen. Diese zeigten auch gegenüber den Normalernährten eine weitere Beschleunigung des Wachstums besonders im zweiten, dritten und vierten Larvenstadium, die viel früher und rascher durchlaufen wurden. Nach der Überwinterung blieb dagegen die Entwicklungsgeschwindigkeit wie bei den „Sterilen“ wieder hinter der der Normalernährten zurück, jedoch erreichten 15 (8 Männchen und 7 Weibchen) das Imaginalstadium, mit 18,3% also ebenso viele wie bei den Normalgefütterten des gleichen Versuchsjahres.

Im ganzen zeigen diese noch tastenden Versuche aber, daß die Fütterung mit Keimpflanzen die Ausfallserscheinungen weitgehend ausgleichen kann, die bei Symbiontenverlust entstehen. In Analogie zu ähnlichen Fällen bei anderen Symbiosen wird damit die Annahme gestärkt, daß die Symbionten offenbar für das Wachstum der Wanzenlarven wichtige Stoffe liefern, die wuchsstoffartigen Charakter haben.

Das Verhalten symbiontenfreier Imagines

Insgesamt wurden in allen, in beiden Versuchsserien, durchgeführten Zuchten mit normalen symbiontenhaltigen Tieren 27 (12,15) Imagines

erzogen, aus symbiontenlosen Larven 12 (7,5). Auch das Verhalten dieser relativ wenigen Individuen gestattete vergleichsweise Beobachtungen. Im ganzen wirken die „Normalen“ etwas lebhafter als die „Sterilen“, die ja auch schon als Larven meist einen trägeren Eindruck machten. In Größe und Gestalt waren jedoch keine Unterschiede festzustellen, auch kaum in der Imaginallebensdauer. Sofern Männchen und Weibchen gleichzeitig vorhanden waren, wurden mehrfach auch Kopulationen beobachtet. Bei der deutlich ausgeprägten Proterandrie waren indessen besonders bei den wenigen zur Verfügung stehenden sterilen Imagines die Männchen meist schon gestorben, wenn die Weibchen in den Zuchten auftraten; vor allem auch infolge der oben geschilderten stark verzögerten, im Mittel um einen ganzen Monat nachhinkenden Entwicklung. Während in unseren Zuchten die letzten normalen Imagines schon Ende Mai 1952 starben, lebten die sterilen bis weit in den Juli hinein. Eine L_4 lebte, ohne sich weiter zu entwickeln, bis zum 1. Dezember, eine L_5 sogar bis zum 10. März 1953. Bei der histologischen Kontrolle zeigte die L_4 eine schwere, offenbar vom Darmkanal ausgehende Pilzinfektion, die alle Gewebe durchdrang und offenbar den Tod bewirkt hatte.

Die normalen Imagines setzten — in unseren Zuchten schon ab Ende April (vom 88. Tage nach der Auswinterung an) — eine Reihe normaler, allerdings nur selten befruchteter Gelege ab, von denen die letzteren später auch schlüpften. Von den sterilen Imagines erhielten wir dagegen nur einige wenige, erwartungsgemäß (s. oben) stets unbefruchtete Gelege, und zwar erst Mitte Juli, vom 162. Tage nach der Überwinterung an. Das Material ist allerdings viel zu gering, als daß man daraus mit Sicherheit schließen könnte, daß auch die Präovipositionszeit der „Sterilen“ stark verlängert ist, obwohl die wenigen Werte darauf hindeuten. Auch hier müßte mit größeren imaginalpopulationen gearbeitet werden, die man bei geeigneten Zuchtbedingungen und Fütterung der „Sterilen“ mit Keimlingen wohl erreichen kann. Auch hier sind aber an Form und Größe der Eier keine Unterschiede gegenüber denen normaler Tiere festzustellen. Auch Symbiontenpakete wurden in allen Fällen, überraschenderweise auch von den symbiontenfreien Müttern, den Gelegen beigegeben. Auf Schnittpräparaten zeigt sich jedoch, daß diese letzteren unter ihrer normalen lamellosen Hülle nur das eosinophile Füllsekret, aber keine Symbionten aufweisen. Abb. 3 zeigt zum Vergleich Ausschnitte von Symbiontenballen aus Gelegen normaler und steriler Weibchen. Die Produktion des Hüll- und des Füllsekretes sowie die Formung der Symbiontenkapseln läuft also auch bei den symbiontenlosen Weibchen ganz normal ab — wie ja alle anderen Entwicklungsvorgänge mit Ausnahme ihrer Verzögerung ebenfalls. Nur Symbionten können natürlich nicht eingelagert werden. Man könnte also, wenn man auch be-

fruchtete Gelege solcher Weibchen erhielt, dann auch ohne Entfernung der ja eben leeren Symbiontenpakete eine neue symbiontenfreie Larvengeneration bekommen. Dabei bliebe den geschlüpften Junglarven dann das rastlose Suchen erspart und es würde sich zeigen müssen, ob sie vielleicht — nach Aufsaugen des sterilen, eosinophilen Füllsekretes —

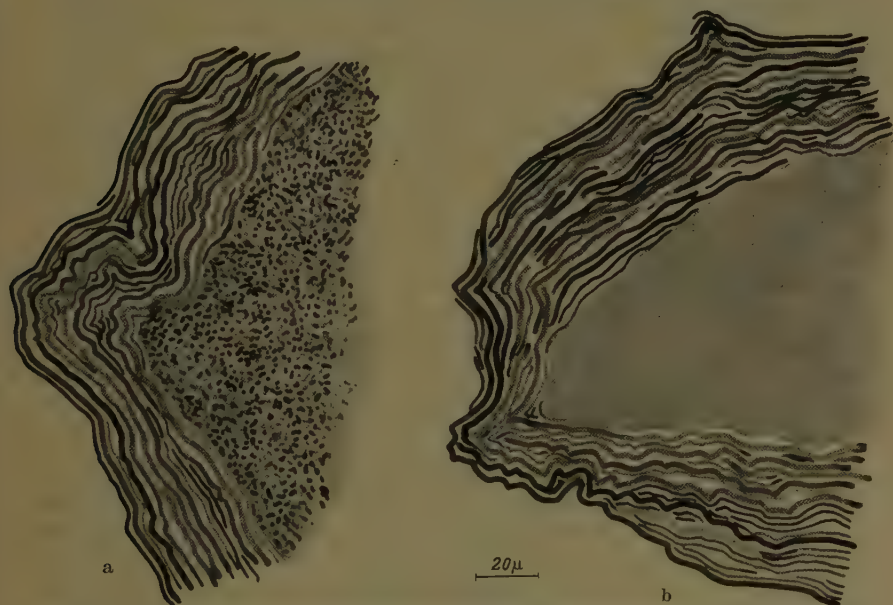


Abb. 3a u. b. Teilanschnitte von Symbiontenballen aus Gelegen der Wanze *Coptosoma scutellatum* GEOFFR. a von einem normalen, symbiontenführenden Weibchen abgesetzt, mit zahlreichen Symbionten im Füllsekret; b von einem symbiontenfreien Weibchen abgesetzt, ohne Symbionten im Füllsekret. Außen jeweils das lamellöse Hüllsekret

ihre Säuglingsanfälligkeit leichter überwinden, zumal sie ja zumindest nicht so erschöpft vom vergeblichen Suchen sein dürften.

Reinfektionsversuche

Der einwandfreieste Weg, die physiologische Bedeutung von Symbionten zu erkennen, wird stets die Reinfektion der künstlich steril gemachten Wirte sein, die eine weitgehende Ausgleichung der bei den symbiontenfreien festgestellten Ausfallserscheinungen bewirken muß, wenn der Nachweis eines Symbioseverhältnisses stichhaltig sein soll. Dies setzt auch im Falle von *Coptosoma* voraus, daß man nicht nur den Wirt, sondern auch die Symbionten isoliert halten, d. h. in Reinkultur züchten kann und daß es eine Möglichkeit gibt, sie den sterilen Wirten später wieder zu applizieren.

Die in dieser Richtung 1939 begonnenen Versuche haben infolge der oben erwähnten Umstände leider nicht zu völlig eindeutigen Ergebnissen

geführt. Wenn trotzdem einiges davon hier kurz mitgeteilt wird, so nur, um anderen die gewonnenen Erfahrungen zugänglich zu machen.

Im Anschluß an die Angaben GLASGOWS über die Zucht von Bakterien aus *Anasa tristis* (Hem. Heteropt.) und auf Grund der Überlegung, daß die Darmsymbionten vermutlich vornehmlich den von der Wanze aufgesogenen Pflanzensaft als Substrat benötigen, wurden 150 g einer Abkochung von *Coronilla varia*-Laub mit 20 g Liebigs Fleischextrakt, ein Maggiwürfel, 5 g Traubenzucker und 20 g Agar für Platten zugegeben und, auf 1 Liter aufgefüllt, bei 1,5 atü autoklaviert. Zur Beimpfung der daraus gegossenen Platten wurden ausschließlich Symbiontenpakete benutzt, da anzunehmen war, daß die in ihnen enthaltenen Infektionsformen sich am ehesten unter den veränderten Bedingungen vermehren würden. Es wurden in mehrfacher Wiederholung stets mehrere Symbiontenballen in einer 0,4%igen Chloraminlösung gebadet und nach 6maligem Nachwaschen mit sterilem Leitungswasser in einem sterilen Tropfen desselben mit geglühter Lanzettadel zerquetscht und zu einem Brei verrührt, von dem die Abimpfungen mittels Platinöse erfolgten. Fast alle diese Infektionen gingen nach einigen Tagen an. Die zahlreichen so erhaltenen Agar- und Röhrchenkulturen und ihre Tochterkulturen zeigten insofern kein einheitliches Bild, als zumeist neben den kräftigen kugeligen bis kurzelliptischen Infektionsformen, wie wir sie seit SCHNEIDER von *Coptosoma* kennen, alsbald auch oft überwiegend kräftige gedrungene Kurzstäbchen, gelegentlich auch gestrecktere und bisweilen schlauchförmige Formen besonders in älteren Kulturen auftraten. Begutachtende Bakteriologen¹ hielten deshalb und wegen der häufig sehr unterschiedlichen Größe der einzelnen Formen die Kulturen nicht für rein. Dem Kenner symbiontischer Mikroorganismen ist aber der außerordentliche Pleomorphismus der Symbionten durchaus vertraut. Für die *Coptosoma*-Symbionten hat ihn SCHNEIDER nach histologischen und Ausstrich-Präparaten bereits eingehend geschildert und abgebildet, so daß ich geneigt bin, die erhaltenen Symbiontenkulturen durchaus als rein zu betrachten und den Form- und Größenwandel der Bakterien als eine Folge der für die Symbionten doch wahrscheinlich bedeutenden Veränderung des Milieus anzusehen, zumal die Abwandlungen vornehmlich erst in den älteren Kolonien und stets im „älteren“ Kern derselben auftraten. Auch hier müssen jedoch eingehendere Studien mit modernen Verfahren, wie sie etwa FINK, L. SCHNEIDER und GRÄBNER bei Symbiontenkulturen neuerdings mit Erfolg angewandt haben, weitere Klärung bringen, und deshalb sind die hier geschilderten Versuchsergebnisse mit größten Vorbehalten zu bewerten.

¹ Ich bin dem seinerzeitigen Leiter des Landwirtschaftlich-Bakteriologischen Instituts der Universität Leipzig, Herrn Prof. Dr. GLATHE, sowie seinem Assistenten, Herrn Dr. RUDOLPH JUNGHÄNEL, für die freundliche Unterstützung und Beratung bei den bakteriologischen Arbeiten zu großem Dank verpflichtet.

Unter der Annahme, daß es sich bei den gezüchteten Bakterien tatsächlich um die *Coptosoma*-Symbionten handle, wurden dann auch eine Reihe von Reinfektionsversuchen unternommen. Wie wir oben sahen, sind *Coptosoma*-Larven nur dann zum Anstechen und Aussaugen nicht-pflanzlicher Objekte zu bringen, solange sie noch auf dem Gelege bzw. leeren *Coptosoma*-Eihüllen sitzen, also höchstens innerhalb der ersten 24 Std ihres Larvallebens. Auf späteren Stadien der Entwicklung war es völlig unmöglich. Zur Reinfektion bleibt also nur die eine Möglichkeit, den Symbiontenballen mit den kultivierten Symbionten zu vertauschen und bereits die junge Eilarve zu „reinfizieren“, wenn man das überhaupt noch so nennen kann. Nach verschiedenen anderen Versuchen bewährte sich dabei folgende Methodik: Aus einer Agarplattenkultur wird mittels geglühter Lanzetteln unter möglichst sterilen Kautelen ein kleines Klötzchen ausgeschnitten und herausgehoben, das nicht viel größer ist als das zu verwendende *Coptosoma*-Gelege. Auf dieses oberflächlich von der dichten Symbiontenkultur bedeckte Agarklötzchen wird nun das seiner Symbiontenballen schon früher beraubte *Coptosoma*-Gelege oder -Ei mit dem hinteren Pol aufgesetzt, und zwar, um vor Sekundärinfektionen so weit wie möglich geschützt zu sein, möglichst erst, wenn die betreffenden Junglarven schon eine Weile geschlüpft sind, so daß ihr Such- und Stochertrieb schon stark entwickelt ist. Die Larven finden dann meist sehr rasch den Symbiontenbelag auf dem Agar, weil er sich eben dort befindet, wo sonst der Symbiontenballen liegt und sie auch normal auf ihren Eiern sitzen können. Sie saugen zwar meist nicht so ruhig und unablässig an ihm wie an den Symbiontenkapseln, nehmen doch aber — wie histologische Kontrollen zeigten — auf diese Weise genügend Symbionten auf. Nach einiger Zeit verlassen sie dann wie normale Tiere die Eischalen und setzen sich wie diese in schildkrötenartiger Stellung mit dem Kopf zum Gelege gewandt neben das Gelege, um zu ruhen, bevor sie nach einiger Zeit (Stunden) zu normaler Nahrungsaufnahme an der Wirtspflanze übergehen.

Die Entwicklung von insgesamt 218 solcher mit „Agar-Symbionten“ gefütterter *Coptosoma*-Larven unterschied sich jedoch in keiner Weise von den völlig steril aufgezogenen. Sie entwickelten sich ebenso langsam wie diese und erreichten nur selten das fünfte Larvenstadium. Die Mehrzahl starb vor der Überwinterung in jüngeren Larvalstadien, wie ihre Sterblichkeit überhaupt besonders zu Anfang der Entwicklung sogar eher noch größer war. Histologische Kontrollen bestätigten die Vermutung, daß sich die aufgenommenen „Agarsymbionten“ in keinem Falle im Kryptendarm angesiedelt oder vermehrt hatten, sondern völlig verschwunden, man kann wohl sagen „verdaut worden“ waren. Unmittelbar, d. h. höchstens wenige Stunden nach dem Schlüpfen der Larven und dem Aufsaugen der Agarkolonie sind sie als (meist schwer färbbare) Grüppchen und zu unregelmäßigen Klümpchen geballt im

Restdotter des frühlarvalen Mitteldarms zu erkennen — ganz ähnlich den normal aus dem Symbiontenballen aufgesogenen Infektionsformen. Aber wie auch diejenigen der normal aus dem Symbiontenballen aufgesogenen Symbionten, die im Mitteldarm zurückbleiben, sehr bald mit dem Restdotter verdaut werden (s. auch SCHNEIDER S. 611), so offenbar auch die Gesamtheit der „Agarsymbionten“. Nur in vereinzelten Fällen zeigten bald nach der künstlichen Infektion mit „Agarsymbionten“ gestorbene Junglarven eine starke Bakterienbesiedelung der hinteren Mitteldarmabschnitte. Die Bakterien wiesen aber weder die gleiche Größe und Gestalt wie normale Symbionten auf, noch besiedelten sie die Darmkrypten in der gewohnten Weise. Sie überschwemmten vielmehr den gesamten Darm, waren in die Malpighigefäße und sogar in die Darmzellen eingedrungen, deren Kerne größtenteils pyknotisch degenerierten, so daß offenbar der Tod dieser Tiere eine Folge der ungehemmten Bakterienvermehrung war.

Man kann natürlich annehmen, daß in unseren Versuchen die „Agarsymbionten“ in Wahrheit nicht Nachkommen der *Coptosoma*-Symbionten waren, sondern fremde Mikroorganismen, die von den jungen Larven zwar aufgenommen, aber — bis auf wenige Ausnahmen, die tödliche Infektionen bewirkten — verdaut wurden. Nach dem oben Gesagten ist das aber weniger wahrscheinlich. Vielmehr sind die Befunde wohl so zu deuten, daß in der Mehrzahl der Fälle tatsächlich Nachkommen ehemaliger Symbionten aus den Agarkulturen aufgesogen worden waren, die symbiontischen Eigenschaften derselben aber durch die Agarpassagen schon so nachhaltig verlorengegangen waren, daß eben eine Ansiedlung in den Krypten des Mitteldarmes nicht mehr gelang. In den wenigen Fällen, wo dies so schien, könnten entweder tatsächlich Fremdinfectionen vorliegen oder aber die in fremder Umgebung „verwilderten“ Symbionten die normalen Schranken durchbrochen haben, die der Wirtsorganismus ihnen normalerweise setzt. Es war daraus zu schließen, daß wahrscheinlich die Agarpassagen nachteilig für eine Reinfektion seien. Deshalb wurden statt der Symbiontenballen oder Agarkulturen den geschlüpften Gelegen frisch aus *Coptosoma*-Imagines herauspräparierte Kryptendärme sowie Endkryptenteile und Übertragungsorgane (sog. Endblasen) weiblicher Därme auf sterilen Agarklötzchen untergelegt, die von den geschlüpften Junglarven auch besogen wurden. Auch diese Larven verhielten sich in der weiteren Aufzucht wie vollkommen sterile Tiere. Sie erreichten bis zur Einwinterung mit wenigen Ausnahmen nur das zweite und dritte, nur zwei im Mai 1940 das fünfte Larvenstadium. Stichproben erwiesen sie als tatsächlich symbiontenfrei. Lediglich die Junglarven, die an Endblasen (Übertragungsorganen) weiblicher Därme gesaugt hatten, entwickelten sich auffallend rasch, nahezu wie normale Tiere weiter. Die erste L_4 trat bei ihnen bereits am 41. Tage nach dem Schlüpfen auf, am 54. waren es bereits 6 (von insgesamt 9 lebenden Larven) und

bei der Einwinterung lebten 5 L_4 und 3 L_3 (50 % der Ausgangspopulation). Die Überwinterung überstanden vier L_4 , von denen allerdings nur eine Mitte Mai 1940 die Häutung zur Imago vollzog und dabei starb. Leider ist wegen der wenigen Individuen (15 Ausgangstiere!) und der eingangs geschilderten Umstände von dieser Zucht kein Material fixiert worden, so daß eine histologische Nachprüfung nicht möglich ist. Doch spricht alles dafür, daß diese Tiere, die auch eine sehr geringe Sterblichkeit aufwiesen, tatsächlich Symbionten beherbergten. Die Tatsache, daß auch beim unmittelbaren Aufsaugen von Symbionten aus weiblichen Därmen nur dann eine Reinfektion gelingt, wenn sie sich an dem Übertragungsorgan selbst vollzieht, läßt vermuten, daß zum normalen Ablauf ihrer Ansiedelung im larvalen Darm vielleicht auch das eosinophile Füllsekret notwendig ist; denn nur in den Endblasen ist es bereits den Infektionsformen beigemischt. Zugleich zeigen die Befunde, wie eng das symbiontische Verhältnis auch schon bei einer extrazellulären Darmsymbiose ist und wie geringe Verschiebungen in dem fein abgestimmten Zusammenleben der Partner schon zum Zusammenbruch des Konsortiums führen.

Wenn also bei *Coptosoma* schon die eigenen Symbionten nur unter ganz bestimmten Bedingungen und während sehr genau begrenzter Entwicklungsphasen in den jugendlichen Wirtsorganismus eingeführt werden können, so nimmt es nicht wunder, daß auch Versuche, sie durch Symbionten anderer Wanzen oder gar durch nicht-symbiontische Mikroorganismen zu ersetzen, fehlschlagen. So entwickelten sich Junglarven, denen mit der Agarklötzchen-Methode Symbionten von *Pentatoma rufipes* (Hem. Heteropt. Pentatomidae) geboten worden waren, völlig wie sterile und zeigten auch trotz erster Aufnahme der Bakterien in den dottergefüllten Mitteldarmteil später völlig leere Kryptendärme. Ganz ähnlich verliefen Versuche, bei denen den Junglarven statt der Symbiontenballen Agarklötzchen mit Kulturen von *Bacterium mycoides*, *B. herbicola* oder *Pseudomonas fluorescens* untergeschoben wurden. Nach einer extrem hohen Anfangssterblichkeit von etwa 75% bereits bis zum 8. Zuchttag entwickelten sich die Tiere wie sterile Larven, von denen bis zur Einwinterung keine über das dritte Larvenstadium hinauskam. Die hohe Sterblichkeit war wohl eine Folge parasitischer Überschwemmung des Körpers mit den aufgenommenen Mikroorganismen, wie histologische Stichproben ergaben, während es den überlebenden Tieren offenbar gelang, die gefährlichen Gäste zu beseitigen.

Diskussion der Ergebnisse

Wenn die Ergebnisse der vorliegenden Studien an der Bakterien-symbiose von *Coptosoma scutellatum* aus zeitbedingten Gründen und infolge der technischen Mängel, die solchen ersten Analysierungsversuchen einer Insektensymbiose stets anhaften, auch noch sehr lückenhaft und vielfach zu unsicher belegt sind, so vermögen sie doch schon Licht

auf die Physiologie dieser eigentümlichen Darmsymbiose zu werfen, zumal wir inzwischen, insbesondere durch die gründlichen Untersuchungen von R. FINK an den Symbionten von *Pseudococcus citri* RISSO und von L. SCHNEIDER an denen von *Syromastes marginatus*, soviel Exaktes über die physiologischen Leistungen von Hemipterensymbionten in vitro erfahren haben.

Nach den für Außenstehende oft ans Märchenhafte grenzenden Anpassungserscheinungen, die bei intrazellulären Symbiosen im anatomischen Bau und histologischen sowie cytologischen Geschehen des Wirtes von BUCHNER und seiner Schule aufgedeckt worden sind, bietet *Coptosoma* erstmalig ein eindrucksvolles Beispiel von der Einspannung eines zweifellos erblich verankerten Instinktverhaltens zur Sicherung der Symbiontenübertragung auf die Nachkommen. Dabei ist weniger an die Bildung und artgemäße Absetzung der merkwürdigen Symbiontenpakete durch das eiablegende Weibchen gedacht, als vielmehr an die starre Folge von Instinktbewegungen, die die Junglarven förmlich zum Aufsuchen und Aussaugen dieser Symbiontenballen zwingen, bevor sie zur normalen Nahrungsaufnahme schreiten können. Vom Standpunkt der tierischen Verhaltensforschung erscheint es demnach durchaus verständlich, daß durch geeignete Darbietung von Ersatzobjekten, hier in Form von Agarklötzchen mit oder ohne Mikrobenkulturen, die gleiche Folge von Instinktbewegungen ausgelöst und damit die Aufnahme fremder Mikroorganismen bewirkt werden kann. Damit wird deutlich, daß für die *Coptosoma*-Larven weder Form noch Farbe oder Geruch der Symbiontenballen entscheidende Auslöser sein können, sondern offenbar nur bestimmte mechanische Konsistenzeigenschaften, die zudem kombiniert mit Tasteindrücken sein müssen, wie sie die Eischale bietet. Läuft der Suchtrieb über viele Stunden erfolglos ab, so ermüdet und erlischt er schließlich und macht anderen Instinkthandlungen Platz, ebenso wie er durch Ersatzstoffe wie Agar befriedigt werden kann.

Die dargelegten Aufzuchtergebnisse zeigen, daß *Coptosoma*-Larven auch ohne Symbionten schließlich zum Imaginalstadium heranzuwachsen und sogar Eier und (leere) Symbiontenpakete zu erzeugen vermögen, allerdings nur zu einem bedeutend verminderten Prozentsatz als normale Symbiontenträger und mit einer erheblichen Verzögerung, wenn auch unter Erreichung der normalen Körpermaße. Demnach ist der Besitz der Darmbakterien zur Entwicklung zwar nicht unbedingt erforderlich, aber doch außerordentlich vorteilhaft für diese Wanzen; ja man kann wohl vermuten, daß im Freien symbiontenlose Individuen kaum zur Fortpflanzung kommen dürften. Aber schon die enorme zeitliche Verschiebung der Entwicklung würde zwangsläufig spätestens in der zweiten Generation zur allmählichen Vernichtung aller Nachkommen führen müssen, da sie auf zu jugendlichen Stadien zu überwintern gezwungen wäre. So muß also der Besitz der Darmsymbionten schon aus diesen

rein bionomischen Gründen unzweifelhaft ein entscheidender Faktor für das Leben von *Coptosoma* sein, dessen Ausfall praktisch das Aussterben der Population nach sich ziehen würde. Im Gegensatz zu den Cocciden der Gattung *Pseudococcus* (vgl. FINK 1952), die ohne ihre intrazellulären Symbionten nicht länger als 30 Tage leben können, vermag die Plataspide *Coptosoma* zwar den Verlust ihrer Darmsymbionten in einzelnen Individuen — wenigstens über eine Generation hin — zu ertragen, aber im Endeffekt sind die Symbionten bei beiden Hemipteren unentbehrlich zum Fortbestand der Art, während die Pentatomide *Eurydema* nach BONNEMAISON sie offenbar völlig entbehren kann.

Welcher Art diese für *Coptosoma* unentbehrliche Wirkung der Darmsymbionten ist, können die vorgelegten Versuchsergebnisse allerdings nur vermuten lassen. Da Symbiontenverlust Wachstumshemmung nach sich zieht, ist — besonders im Hinblick auf andere physiologisch bereits besser aufgeklärte symbiontische Verhältnisse z. B. bei *Pediculus*, *Rhodnius*, *Sitodrepa*, *Lasioderma* u. a. — an die Produktion von Wuchsstoffen der B-Gruppe zu denken, die der Wirt offenbar allein nicht in ausreichendem Maße mit der Nahrung aufzunehmen oder zu synthetisieren imstande ist.

Nun hat aber außerdem die Prüfung der physiologischen Leistungsfähigkeit verschiedener Hemipterensymbionten *in vitro* ergeben (FINK, L. SCHNEIDER, TOTH und Mitarbeiter), daß sie in der Lage sind, entweder unter Benutzung von N_2 der Luft oder (häufiger) unter Verwendung organischer Stickstoffquellen (N-reicher Stoffwechselprodukte wie NH_3 , Harnstoff, Harnsäure) Eiweißbausteine (Aminosäuren usw.) zu synthetisieren und dem Wirt zur Verfügung zu stellen. Man könnte also vermuten, daß ihre wachstumsfördernde Wirkung gerade bei Pflanzensäften saugenden Hemipteren in dieser Fähigkeit der Eiweißsynthese liegen könnte, da ja die Nahrung derselben bekanntlich sehr eiweißarm ist. Doch ist sie — wie neuere Untersuchungen gezeigt haben — eben auch sehr wuchsstoffarm. Infolgedessen vermag auch der Befund, daß Ernährung an Wirtspflanzenkeimlingen die durch Symbiontenverlust bedingte Entwicklungshemmung bei *Coptosoma* in hohem Maße kompensieren kann, diese Frage nicht zu entscheiden; denn zweifellos ist in den jungen rasch wachsenden Pflanzen nicht nur der Wuchsstoffgehalt erhöht, sondern auch der Aminosäurespiegel.

Während für den Wirt aber jedenfalls die Sprengung der Symbiose lebensbedrohend ist, vermögen die *Coptosoma*-Bakterien offensichtlich auch außerhalb des Wirtes auf geeigneten Nährböden zu leben, so daß man hier eher von einer helotistischen denn von einer mutualistischen Symbiose wird sprechen müssen. Der Ausgang der — wenn auch nur sehr tastenden — Reinfektionsversuche weist darauf hin, daß der Wirtsorganismus anscheinend die Herrschaft über die symbiontischen Bakterien sehr leicht verliert, wenn sie auch nur für wenige Generationen außer-

halb seines Inneren in fremder Umgebung verbringen. Zumindest vermag er sie dann nicht wieder im Kryptendarm zur Ansiedlung zu bringen. Der Kontakt mit ihnen endet dann stets mit dem Untergang des einen der beiden Partner.

So konnten zwar die vorliegenden Studien die Physiologie der *Coptosoma*-Symbiose nicht aufklären, zeigen aber schon, wie eng die Beziehungen der beiden ungleichen Partner sind und wie die geringste Verschiebung des physiologischen Zusammenspiels die völlige Zerstörung der harmonischen Gemeinschaft bewirkt.

Zusammenfassung

Durch Entfernung der isoliert von den Eiern in Symbiontenpaketen untergebrachten Infektionsformen kann die Darmsymbiose der Plataspide *Coptosoma scutellatum* mit Bakterien leicht gesprengt werden. Die jungen Larven vermögen die Symbiontenpakete nur in den ersten Stunden nach dem Schlüpfen und nur, wenn sie auf dem Gelege sitzen, zu finden und zu erkennen. Symbiontenfreie Larven zeigen gegenüber normalen erheblich gesteigerte Sterblichkeit und eine außerordentliche Entwicklungsverzögerung, so daß nur wenige Versuchstiere das Imaginalstadium erreichten und wenige Eier sowie sterile Symbiontenpakete produzierten. Diese Ausfallserscheinungen konnten durch Aufzucht an Wirtspflanzenkeimlingen weitgehend kompensiert werden. Die in vitro-Kultur der Symbionten scheint leicht zu gelingen, eine Reinfektion der Junglarven danach jedoch nicht.

Literatur

- ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26** (1933). — BRECHER, G., u. V. B. WIGGLESWORTH: The transmission of *Actinomyces rhodnii* ERIKSON in *Rhodnius prolixus* STAL. (Hemiptera) and its influence on the growth of the host. Parasitology **35** (1944). — BUCHNER, P.: Symbiose und Anpassung. Nova Acta Leopoldina, N. F. 8 (1940). — Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. (Sammlung Götschen Nr 1128.) Berlin 1949. — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel 1953. — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intrazellulären Symbionten von *Pseudococcus citri* Risso. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41** (1952). — KOCH, A.: Über das Verhalten symbiontenfreier *Sitodrepa*-Larven. Biol. Zbl. **53** (1933). — Neue Ergebnisse der Symbioseforschung. 1. Die Symbiose des Brotkäfers *Sitodrepa panicea*. Prakt. Mikroskopie **13** (1934). — PUCHTA, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* BURM. Naturwiss. **41** (1954). — ROSENKRANZ, W.: Die Symbiose der Pentatomiden (Hemiptera heteroptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere **36** (1939). — SCHNEIDER, G.: Beiträge zur Kenntnis der symbiontischen Einrichtungen der Heteropteren. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **36** (1940). — SCHNEIDER, L.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an der Wanze *Mesocerus marginatus* L. (Coreidae) und deren Symbionten. (Im Erscheinen.)

Dr. HANS JOACHIM MÜLLER, Quedlinburg, E.- u. J.-Rosenberg-Str. 23

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen
UNTERSUCHUNGEN ZUR BAKTERIENSYMBIOSE
DER TRYPETIDEN (DIPTERA)***

Von
HANNA HELLMUTH
(Eingegangen am 5. Dezember 1955)

Inhalt	Seite
Einführung	483
Material und Methode	484
1. Die untersuchten Arten	484
2. Sammeln und Behandeln der Tiere	485
3. Bakteriologische Technik	486
Beiträge zur Morphologie der Trypetidensymbiose	489
Bakteriologische Untersuchungen	491
1. Die Symbionten der Subfamilie Trypetinae und Tephritinae	491
2. Die Symbionten der Subfamilie Dacinae	500
3. Die Begleitkeime	506
Hinweise auf die Bedeutung der Symbiose	507
Zusammenfassung	515
Literatur	516

Einführung

Über die Bakteriensymbiose der Trypetiden liegt als einzige eine umfassende Arbeit von H. J. STAMMER aus dem Jahre 1929 vor, die an die Untersuchungen von L. PETRI über symbiontische Einrichtungen der *Dacus oleae* GMELIN aus den Jahren 1904—1910 anknüpft. PETRI beschrieb bereits damals die Blindsäcke dieser Larve am Beginn des Mitteldarmes unterhalb des Proventriculus als Wohnstätte des Symbionten, ebenso das Kopfglied der Imago und ihre Beschniereinrichtungen, die der Übertragung der Bakterien auf die Nachkommen dienen. STAMMER konnte die Richtigkeit dieser Ergebnisse bestätigen und gleichzeitig die allgemeine Verbreitung einer Bakteriensymbiose bei der ganzen Familie der Trypetiden feststellen, da sich seine ausgedehnten Untersuchungen auf insgesamt 37 Arten erstreckten, die zu den drei Subfamilien der Dacinae, Trypetinae und Tephritinae gehören. Dabei

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verahrung gewidmet.

** Für die Anregung zu diesem Thema und für wertvolle Hinweise möchte ich Herrn Prof. Dr. H. J. STAMMER meinen herzlichsten Dank aussprechen. Die bakteriologischen Untersuchungen wurden am Hygienischen Institut des Städtischen Krankenhauses Nürnberg durchgeführt. Mein besonderer Dank gilt Herrn Oberarzt Dr. KELLNER, der mir in allen auftretenden bakteriologischen und technischen Fragen jederzeit zur Seite stand.

zeigte sich, daß in der Ausbildung der symbiontischen Einrichtungen eine Höherentwicklung stattgefunden hat, die von den Trypetinen über die Tephritinen zu den Dacinen führt.

PETRI war es nicht gelungen, das von ihm als Symbionten bezeichnete *Bacterium savastanoi* SMITH auf direktem Wege zu kultivieren. Auch in der Folge führten, wie mir Herr Direktor C. SIBILIA der R. Stazione di Patologia vegetale, Roma, in einer Mitteilung bestätigte, weitere diesbezügliche Versuche zu keinem Erfolg. Da sich auch STAMMERs Arbeiten ausschließlich mit der Morphologie der Symbiose befaßten, soll es Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen sein, die Kultivierung und systematische Einordnung der symbiontischen Bakterien der Familie Trypetidae durchzuführen.

Material und Methode

1. Die untersuchten Arten

Die Angehörigen der Familie der Trypetiden sind sämtlich Pflanzenparasiten, und zwar leben sie in Infloreszenzen der Kompositen, als Stengel- und Blattminierer, zum Teil aber auch in Früchten.

Das Material, das ich für meine Untersuchungen verwendete, sammelte ich zum größten Teil selbst, und zwar in den Sommermonaten 1954 und 1955. Es stammte aus Mittelfranken (hauptsächlich aus der Umgebung von Nürnberg), aus der Oberpfalz (hauptsächlich aus der Umgebung von Weiden), aus der Gegend von Bayrischzell und Garmisch-Partenkirchen. Larven und Imagines von *Dacus oleae* erhielt ich durch die freundliche Vermittlung des Herrn Prof. STAMMER von Herrn Prof. P. BUCHNER, Porto d'Ischia (Napoli), dem ich dafür an dieser Stelle herzlich danken möchte. Es war mir so möglich, sowohl Vertreter jeder der drei Subfamilien und der ihnen angehörenden Tribus, soweit sie in Deutschland vorkommen, als auch der in verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen lebenden Arten zu untersuchen.

Um über das verarbeitete Material einen Überblick zu gewinnen, führe ich die behandelten Arten der untersuchten Tiere in systematischer Anordnung im folgenden an. Die erste angegebene Ziffer bedeutet die Anzahl der Larven, die zweite die der Puppen, die dritte die der Imagines.

Tabelle 1

Subfamilie: Dacinae

Tribus Dacini

1. <i>Dacus oleae</i> GMELIN	<i>Olea europaea</i>	10—2— 7
------------------------------	----------------------	---------

Subfamilie: Trypetinae

Tribus Euribiini

2. <i>Euribia cardui</i> L.	<i>Cirsium arvense</i>	12—3— 7
3. <i>Euribia cuspidata</i> MEIG.	<i>Centaurea jacea</i>	8—0— 9
4. <i>Euribia eriolepidis</i> L.	<i>Echinops ritro</i>	8—0— 8
5. <i>Euribia quadrifasciata</i> M.	<i>Centaurea cyanus</i>	0—0— 3

Tribus Trypetini

6. <i>Ceratitis capitata</i> WIED.	<i>Citrus</i> -Arten	15—0— 3
7. <i>Platyparea poeciloptera</i> S.	<i>Asparagus officinalis</i>	30—6—20

8. <i>Vidalia cornuta</i> SCOP.	<i>Eupatorium cannabinum</i>	0—0—10
9. <i>Rhagoletis cerasi</i> LOEW.	<i>Prunus cerasus</i>	55—7—0
10. <i>Rhagoletis alternata</i> FALL.	<i>Rosa canina</i>	29—8—63
11. <i>Rhagoletis meigeni</i> LOEW.	<i>Berberis vulgaris</i>	0—0—22
12. <i>Trypeta artemisiae</i> FABR.	<i>Artemisia vulgaris</i>	8—0—12
13. <i>Phagocarpus permundus</i> HARR.	<i>Crataegus oxyacanthae</i>	38—0—0
14. <i>Acidia cognata</i> WIED.	<i>Tussilago farfara</i>	5—2—0
15. <i>Myiobia lucida</i> FALL.	<i>Lonicera xylosteum</i>	24—5—0

Subfamilie: Tephritinae

Tribus Terellini

16. <i>Ceriocera ceratocera</i> HEND.	<i>Centaurea scabiosa</i>	4—0—0
17. <i>Chaetorellia iaceae</i> R.-D.	<i>Centaurea montana</i>	22—6—34
18. <i>Chaetostomella onotrophes</i>	<i>Centaurea</i> -, <i>Cirsium</i> -Arten	44—3—25
19. <i>Terellia serratulae</i> L.	<i>Carduus nutans</i>	13—0—2
20. <i>Orellia ruficauda</i> FABR.	<i>Cirsium arvense</i>	10—0—0
21. <i>Orellia colon</i> MEIG.	<i>Centaurea cyanus</i>	0—0—1
22. <i>Orellia winthemi</i> MEIG.	<i>Cirsium palustre</i>	4—0—0
23. <i>Orellia tussilaginis</i> FABR.	<i>Centaurea iacea</i>	3—0—0

Tribus Xyphosiini

24. <i>Xyphosia miliaria</i> SCHR.	<i>Cirsium arvense</i>	15—0—4
25. <i>Icterica westermanni</i> MEIG.	<i>Senecio</i> -Arten	47—0—0
26. <i>Icterica zelleri</i> LOEW.	<i>Senecio alpinus</i>	21—0—0

Tribus Tephritini

27. <i>Paroxyna absinthii</i> FABR.	<i>Bidens cernua</i>	0—0—2
28. <i>Sphenella marginata</i> FALL.	<i>Senecio</i> -Arten	11—0—9
29. <i>Ensina sonchi</i> L.	<i>Senecio</i> -Arten	8—2—17
30. <i>Euaesta guttata</i> FALL.	<i>Cirsium palustre</i>	16—0—2
31. <i>Tephritis angustipennis</i> L.	<i>Achillea ptarmica</i>	0—2—6
32. <i>Tephritis arnicae</i> L.	<i>Arnica montana</i>	34—22—34
33. <i>Tephritis bardanae</i> SCHR.	<i>Arctium lappa</i>	16—0—63
34. <i>Tephritis cometa</i> L.	<i>Cirsium arvense</i>	11—0—18
35. <i>Tephritis conura</i> L.	<i>Cirsium oleraceum</i>	16—8—43
36. <i>Tephritis dilacerata</i> L.	<i>Sonchus arvensis</i>	4—7—71
37. <i>Tephritis nigricauda</i> L.	<i>Matricaria chamomilla</i>	1—0—2
38. <i>Tephritis truncata</i> L.	<i>Arnica montana</i>	0—0—10
39. <i>Tephritis nessii</i> WIED.	<i>Chrysanthemum leuc.</i>	6—4—12
40. <i>Trypanea amoena</i> FRFLD.	<i>Lactuca saligna</i>	2—0—0
41. <i>Trypanea stellata</i> FUESS.	<i>Senecio vulgaris</i>	18—2—21
42. <i>Acanthophilus helianthi</i> R.	<i>Centaurea nigra</i>	13—0—0

Tribus Ditrichini

43. <i>Noeeta pupillata</i> FALL.	<i>Hieracium murorum</i>	37—0—11
-----------------------------------	--------------------------	---------

2. Sammeln und Behandeln der Tiere

Der weitaus größte Teil des Materials wurde als Larven aus den Blütenköpfen, von Stengeln, Früchten und Blättern gesammelt. Dabei wurde, soweit möglich, versucht, die gleiche Art aus verschiedenen Pflanzenarten zu erhalten. Nur ein ganz geringer Teil der Fliegen wurde durch Keschern gewonnen. Somit stammten die Fliegen meist aus eigener Aufzucht. Denn es erschien mir am zweckmäßigsten, die verpuppungsreifen Larven aus ihrer Umgebung herauszunehmen und sie nach

besonderer Aufbereitung in Schalen verpuppen und steril schlüpfen zu lassen. In wenigen Fällen verbrachte ich als Vergleichsmaterial die Blütenköpfe in Gläser und wartete dort das Schlüpfen der Tiere ab. Es zeigte sich jedoch, daß die Imagines, die mit verschiedenen faulenden Substanzen in Berührung kommen, ein verändertes Bild ihrer Darmflora aufweisen. Ich werde an anderer Stelle darauf noch näher eingehen. Das Schlüpfen der Imagines erfolgte zum Teil in wenigen Wochen, bei manchen Arten jedoch erst im nächsten Frühjahr. Obgleich die Zuchtschalen in geheizten Räumen untergebracht waren, verkürzte sich die Zeit des Puppenstadiums nur um wenige Wochen. Ein Verbringen in den Eisschrank mit anschließender Erwärmung konnte die Entwicklungsdauer nicht verkürzen. Es scheint also, daß in diesem Falle die Kälte allein nicht die entscheidende Rolle in der Entwicklungsenthemmung spielt.

Trotz Fütterung und bester Lebensbedingungen gelang es mit Ausnahme von *Platyparea pociloptera* und *Rhagoletis alternata* nicht, die Fliegen zur Eiablage zu bringen. Die Untersuchung mußte sich deshalb in den übrigen Fällen auf steril präparierte Eier aus den Ovarien legefähiger Weibchen beschränken.

Der Befall der Infloreszenzen war bei den einzelnen Arten sehr verschieden groß, und so glückte es in manchen Fällen nicht, eine größere Anzahl von Individuen zu gewinnen. Vor allem die Beschaffung der Blattminierer bereitete große Schwierigkeiten, und erst im zweiten Jahr gelang es diese Arten, vor allem in den über 900 m hoch gelegenen Gebirgsregionen, aufzufinden. Allerdings zeigten hier Blätter verschiedener Pflanzenfamilien Befall durch die gleiche Blattminiererart.

3. Bakteriologische Technik

Das eingebrachte Material wurde sobald als möglich verarbeitet. Durch vorsichtiges Öffnen der Blütenköpfe, Stengel und Früchte wurden die Larven unbeschädigt herauspräpariert. Wie bereits erwähnt, wurde ein größerer Teil der Larven jeweils zur Weiterentwicklung verwendet, da häufig eine Parasitierung der Larven die Zuchtergebnisse beeinträchtigte.

Unter Verwendung steriler Instrumente wurden die für die Aufzucht bestimmten erwachsenen Larven zunächst in sterile Petrischalen verbracht und die Verpuppung abgewartet. Diese erfolgt manchmal in wenigen Stunden, meist aber in einem Tage. Denn die Entnahme aus der gewohnten Umgebung entzieht die Feuchtigkeit, was sehr schnell die Verpuppung auslöst und das Abscheiden der Tönnchencuticula herbeiführt. Andererseits kann man durch Zugabe feuchter Watte, in die sich die Larven in kürzester Zeit zurückziehen, die Verpuppung um einige Tage verzögern. Anschließend wurden die Tönnchen in 5% Tegelösung¹ 10 min lang gebadet, in steriler physiologischer Kochsalzlösung mehrere Male abgespült und in sterilen Petrischalen aufbewahrt. An Stelle von Tegelösung zur Desinfektion wurde zunächst auch 0,25% Formalin- bzw. Quartaminlösung verwendet. Es zeigte sich, daß die Sterilisation mit Tegelösung vollkommen unschädlich war, während durch die Formalin- und Quartaminlösung in einigen Fällen Mißgeburten auftraten und einige der Tönnchen überhaupt keine Imagines ergaben. Deshalb wurde das gesamte weitere Aufzuchtmaterial mit Tegelösung sterilisiert. Daß die Außenhülle der Tönnchen dadurch vollkommen keimfrei wurde, bewiesen die immer wieder angestellten Wachstumsversuche im Spezialnährboden, die sämtlich negativ verliefen.

Da die Tönnchen nicht zu trocken, aber auch nicht zu feucht aufbewahrt werden dürfen, gab ich zu jeder Petrischale sterile mit sterilem Aqua. dest. getränkte

¹ Tego 103 G: Antibakterieller Wirkstoff: DL-(Oktylaminoäthyl)-Glycin. Th. Goldschmidt A.-G., Essen.

Watte um die nötige Feuchtigkeit zuzuführen. Um ein Austrocknen und ein dadurch notwendig werdendes wiederholtes Öffnen der Schalen zu vermeiden, verbrachte ich diese in einen abgeschlossenen großen Glasbehälter, in dem ein Wassergefäß für dauernde Luftfeuchtigkeit sorgte. Die Behandlung der Tönnchen hatte nicht nur den Vorteil, die Imagines steril zum Schlüpfen zu bringen, es zeigte sich auch gegenüber den unbehandelten, daß eine Zerstörung durch Schimmelpilzbefall weitgehend ausgeschlossen wurde.

Für die Anzucht der Symbionten war es erforderlich, die Larven, Tönnchen und Imagines äußerlich vollkommen keimfrei zu machen. Es gelang dies auch unter Einhaltung der gebotenen Vorsichtsmaßregeln, wie sie bereits von verschiedenen Autoren für diesen Zweck eingehend beschrieben wurden, so daß ich auf eine nähere Ausführung verzichten kann. Vom Abflammen der Tiere — eine Methode, die verschiedentlich zu diesem Zweck angewendet wurde — nahm ich Abstand. Es besteht dabei immer die Gefahr, daß bei zu vorsichtigem Vorgehen nicht sämtliche Außenbakterien abgetötet werden, während andererseits bei den kleinen Objekten ein zu langes Einwirken leicht die Flora im Inneren des Körpers schädigt. Deshalb verwendete ich auch hier die bereits erwähnte Methode des Badens in 5% Teglösung. Die Dauer der Einwirkung betrug 15 min, bei der Konzentration der Lösung also eine Zeit, in der mit Ausnahme von Sporen sämtliche Bakterien sicher abgetötet werden. Zur Beseitigung des Desinfektionsmittels wurden die Individuen in steriler physiologischer Kochsalzlösung mehrere Male abgespült, um dessen Verschleppen in die Nährböden und dadurch hervorgerufene Wachstumshemmung zu verhindern. Immer wieder durchgeführte Kontrollversuche ergaben niemals ein Wachstum. Anschließend wurde der Darm der Larven unter dem Binokular steril präpariert. Um eine Luftinfektion auszuschließen, wurde der Darm der Larven auch jetzt wieder in Tego kurze Zeit gebadet (3 min), mit NaCl-Lösung gespült und daraufhin in der Gesamtheit oder nach Abschnitten getrennt in flüssigen Nährboden gebracht. Bei den Imagines wurde in gleicher Weise verfahren.

Um sich ein Bild von der Darmflora machen zu können, wurde jeweils der Darm einiger weniger Versuchstiere herausgenommen, mittels zweier Objektträger gequetscht und als Ausstrichpräparat gefärbt. Ebenso wurden von allen auf flüssigen Nährböden aus Larven, Tönnchen und Imagines gewachsenen Bakterien Ausstriche angefertigt. Die Färbung erfolgte nach GRAM mit Gentianaviolett und LUGOLscher Lösung, um hierdurch einen Überblick über den Anteil der grampositiven und gramnegativen Bakterien und ihr Verhältnis zueinander zu gewinnen.

Die Anzucht der Bakterien aus den Anhängen bzw. den Darmabschnitten erfolgte auf flüssigen Nährböden. Anfängliche Versuche, den Inhalt der Blindsäcke bzw. Darmabschnitte auf festen Nährböden wie Agar-Agar-, Blut- oder Endoplatten auszustreichen, schlugen vollkommen fehl. Auch die sonst in der Diagnostik in Gebrauch befindlichen flüssigen Nährböden wie Fleischbrühe, Peptonwasser und Dextrosebouillon zeigten kein befriedigendes Wachstum. Insbesondere stimmten die in der Anreicherung angegangenen Bakterien nicht mit denen im mikroskopischen Ausstrichpräparat überein. Es mußte also angenommen werden, daß es sich bei den gezüchteten Bakterien nicht um den eigentlichen Symbionten, sondern um Zufallskeime handle. Dafür sprach auch die Tatsache, daß die positiven Kulturen sich im wesentlichen aus den Darmabschnitten züchten ließen, aber nicht aus den Blindsäcken. Es war deshalb zu vermuten, daß die physiologischen Bedingungen des Nährbodens nicht den Anforderungen eines Symbionten genügen, der ganz speziellen Verhältnissen angepaßt ist.

Auf Grund dieser Überlegung wurde nun damit begonnen, die übliche Nährbodengrundlage durch entsprechende Zusätze den physiologischen Bedingungen mehr und mehr anzupassen. Man mußte annehmen, daß in den besonderen symbiontischen Organen der Insekten den Bakterien Stoffe zur Verfügung stehen, die

die gebräuchlichen Nährböden nicht enthalten. Daß dies vitaminöse Substanzen sein müssen, dürfte wohl nicht von der Hand zu weisen sein. Zugaben von Einzelvitaminen führten nicht zum Ziel. Deshalb wurde nach einer Vielzahl von Versuchen zu einem natürlichen Vitaminkombinat übergegangen, wie es sich in Form von Hefeautolysat schon auf anderen Gebieten erfolgreich bewährt hat. Bei starker Beimpfung mit dem ganzen Darm führte diese Methode tatsächlich auch zu den ersten Ergebnissen, die aber noch nicht mit genügender Sicherheit reproduzierbar waren. Es mußten also noch weitere Unterschiede zwischen dem symbiontischen Leben und den Kulturbedingungen vorhanden sein. Die angestellten Überlegungen führten zu der Annahme, daß diese Unterschiede im Redoxpotential liegen könnten. Dahingehende Versuche mit Resazurin im Objektträgertest am Larvendarm bestätigten diese Vermutungen. Das Resazurin dient in diesem Falle als Indikator für die Höhe des Redoxpotentials. Nach diesem Test herrschen im Larvendarm mikroaerobe Bedingungen. Daher konnte durch einen entsprechenden Zusatz von Natriumthioglykolat ein Überwiegen der reduzierenden Substanzen und die Angleichung an die gegebenen physiologischen Verhältnisse erreicht werden. So wurde schließlich die gewünschte Gleichmäßigkeit der Züchtungsbefunde erzielt; die Verunreinigungen traten in ihrer Häufigkeit gegenüber der Regelmäßigkeit, mit der ein- und dasselbe Bakterium gezüchtet werden konnte, zurück.

Die endgültige Zusammensetzung des Nährbodens war folgende:

Fleischwasser . . .	1000,0	Resazurin	0,001
Pepton	5,0	Difco-Hefeextrakt . .	5,0
NaCl	3,0	Cystinhydrochlorid . .	0,5
Na ₂ HPO ₄	2,0	pH	7,3
Natriumthioglykolat . .	0,5		

Autoklavieren des Nährbodens ergab schlechteres Wachstum; deshalb wurde dreimal fraktionierte Sterilisation angewendet. Da der Nährboden äußerst empfindlich gegen Verunreinigungen ist, erfolgte die Beimpfung erst nach drei Tagen. Ein Blauwerden der Kulturflüssigkeit zeigt seine Unbrauchbarkeit an.

Von jeder dieser flüssigen Kulturen wurde, wie bereits erwähnt, ein Ausstrichpräparat nach GRAM gefärbt. Waren keine grampositiven Kokken und Stäbchen nachzuweisen, so beimpfte ich mit der Anreicherungskultur Endoplatten, die die beste Unterscheidungsmöglichkeit gestatten, um anschließend durch Isolierung Reinkulturen gewinnen zu können. Im anderen Fall erfolgte zuerst eine Übertragung auf Agarplatten, um vorher die grampositiven Bakterien nachzuweisen. Erst dann war ein Beimpfen der Endoplatten möglich. Das Isolieren der Bakterien — es handelte sich meistens um Mischkulturen von zwei, höchstens drei verschiedenen gramnegativen und sehr selten nur um grampositive Bakterien — war sehr mühsam und konnte nur durch wiederholte Überimpfung auf neue Platten erreicht werden. War auf diese Weise eine Reinkultur der einzelnen auftretenden Bakterienarten erzielt, dann wurden Stichkulturen angelegt, um die genaue diagnostische Bearbeitung der Einzelkulturen auf später verschieben zu können. Es war nämlich in der Fangzeit bei der übergroßen Fülle von Arbeit, die durch das Sammeln des Materials, das Bearbeiten, Präparieren und Anzüchten anfiel, nicht möglich, auch noch diese zeitraubende Bestimmungsarbeit durchzuführen.

Deshalb wurden die Reinkulturen später nochmals auf Endoplatten ausgestrichen, um hier durch gleichmäßig lange Wachstumsdauer, zunächst einmal nur an Hand der Morphologie der gleich alten Kolonien und unter Berücksichtigung eines gramgefärbten Ausstriches, die Identität der einzelnen Kulturen festzustellen. Denn nur wirklich gleich lang bebrütete Kolonien gestatten dem Aussehen nach einen Vergleich, da die äußere Beschaffenheit der Kolonien im Verlaufe des Wachstums sich ständig verändert. Anschließend wurden die Bakterien dann einer ge-

nauen Differenzierung unterworfen, indem ihr Verhalten auf verschiedenen Nährböden, wie sie der Diagnostik zur Verfügung stehen, geprüft wurde.

Beiträge zur Morphologie der Trypetidensymbiose

STAMMER hat in seiner Arbeit über „Die Bakteriensymbiose der Trypetiden“ (1929) festgestellt, daß alle von ihm untersuchten Arten eine mehr oder minder innige Bakteriensymbiose aufweisen (S. 521). Er konnte zunächst die Ergebnisse PETRIS an *Dacus oleae* (Subfamilie Dacinae), die die höchste Ausbildung der Symbiontenorgane zeigt, voll bestätigen. Denn nicht nur die Larve weist vier ungeteilte, bakteriengefüllte Blindsäcke auf, sondern auch die Imago beherbergt die Symbionten in einem eigenen Kopforgan. Die Bakterien werden durch gut ausgebildete Beschmierorgane auf die Eier, und zwar bei deren Ablage, übertragen.

Innerhalb der Subfamilie Tephritinae weisen die Tribus Tephritini und Schistopterini mit Ausnahme von *Ensina sonchi* ebenfalls als Larven die vier mit Bakterien gefüllten Blindsäcke auf, ebenso besitzen die Imagines als Beschmiereinrichtungen Übertragungsrinnen und die schlitzförmige Verbindung zwischen Darm und Vagina. Der Mitteldarm der Imago zeigt außerdem einen Abschnitt, der etwas erweitert und mit kurzen, unregelmäßigen Zotten bedeckt ist. Da dieser Teil des Darmes die Hauptmasse der symbiontischen Bakterien der Imago enthält, ebenso Veränderungen am Epithel festzustellen waren, kann dieser Mitteldarmabschnitt als Sitz der Symbionten angesprochen werden. Schließlich hat sich dieses Organ bei *Acanthiophilus helianthi* und *Sphenella marginata* noch weiter entwickelt.

Die Angehörigen der übrigen Tribus aus der Subfamilie Tephritinae besitzen kleine, rundliche, bakterienfreie Blindsäcke. Auch den Imagines fehlen „besondere organologische Differenzierungen zur Aufnahme und Übertragung der Symbionten“ (STAMMER 1929, S. 511). Die Bakterien liegen deshalb im Darmkanal der Larven und Imagines. Lediglich die schlitzförmige Verbindung zwischen Enddarm und Vagina, die STAMMER als eine Anpassung an die Symbiose auffaßt, findet sich auch hier. Dieselben Verhältnisse konnten bei den Angehörigen der Subfamilie Trypetinae festgestellt werden.

Bei meinen Untersuchungen konnte ich diese Angaben voll bestätigen. Neu untersucht wurde von mir die Gattung *Euaresta* LOEW., von der ich Larven und Imagines von *Euaresta guttata* aus den Infloreszenzen von *Cirsium palustre* zog. Sie weisen gleichfalls die für die Tribus Tephritini charakteristischen Einrichtungen auf. Die Gattung *Icterica*, die zur Tribus Xyphosiini zählt, hat ebenso wie *Xyphosia miliaria* kleine, ungefüllte Blindsäcke. Imagines standen mir nicht zur Verfügung. Von der Tribus Terellini konnte ich noch *Ceriocera ceratocera*

untersuchen. Auch hier fehlen wie bei den anderen hierzu gehörigen Gattungen eigene symbiontische Organe. Die Blindsäcke sind klein, rundlich und bakterienfrei. Imagines dieser Art sind nicht geschlüpft.

Alle von mir neu untersuchten, zur Subfamilie Trypetinae gehörenden Arten besitzen, ebenso wie die bereits behandelten, keine besonderen symbiontischen Einrichtungen. Das gilt für die Gattungen *Myiolia*, *Rhagoletis*, *Phagocarpus*, *Platyparea* und *Acidia*.

Bei allen diesen Untersuchungen fiel mir immer wieder auf, daß mit Ausnahme der Tribus Tephritini die Ausbildung der Blindsäcke verschieden war. Bei eingehendem Vergleich kam ich zur Feststellung, daß die Größe und Form der nicht gefüllten, bakterienfreien Blindsäcke sich mit der Lebensweise der Larven verändern und nicht den Verwandtschaftsbeziehungen gemäß eine mehr oder minder große Ähnlichkeit zeigen. Alle Larven der in Früchten lebenden Trypetidenarten haben sehr lange und dünne Anhänge. Diese gilt für alle Arten der Gattung *Rhagoletis*, für *Ceratitis capitata*, *Phagocarpus permundus* und *Myiolia lucida*.

Auch die Anhänge der Larven der Spargelfliege (*Platyparea poeciloptera*) sind lang und dünn gestaltet. Wieweit sich diese Feststellung auf alle Stengelparasiten ausdehnen läßt, kann ich nicht sagen, da mir zur Untersuchung nur diese eine Art zur Verfügung stand. Andererseits besitzen alle Larven, die Gallen an Stengeln, bzw. gallenartige Anschwellungen in Blütenböden verursachen, nur ganz kleine Blindsäcke, so daß der Übergang vom Proventriculus in den Mitteldarm ein kragenartiges Aussehen annimmt. Da diese Erscheinung sich nicht allein auf die Arten der Gattung *Euribia* beschränkt, sondern auch bei *Terellia*- und *Orellia*-Arten vorkommt, scheint sie nicht gattungsgebunden, sondern durch die Lebensweise bedingt zu sein. Die Larven der in den Achaenen der Blütenköpfe lebenden Arten, die keine Deformationen hervorrufen, sind zwar etwas größer, jedoch im Verhältnis zu denen der Tephritinae immer noch als klein und rundlich anzusprechen. In der Form jedoch stehen sie ihnen am nächsten, und so liegt die Vermutung nahe, daß sich aus ihnen die großen, bakteriengefüllten Blindsäcke der Tephritini entwickelt haben. Dies ließe sich mit der Lebensweise in Einklang bringen, da meines Erachtens gerade die in Infloreszenzen lebenden Arten mit ihrer Nahrung am stärksten spezialisiert sind.

Bei der von mir untersuchten Blattminiererart, *Acidia cognata*, sind die Blindsäcke ebenfalls rundlich, klein und ungefüllt. Sie sitzen unmittelbar am Beginn des Mitteldarmes, der zunächst halsartig verdünnt ist und sich dann ohne Übergang in ein sackartiges Gebilde verbreitert, eine Erscheinung, die sonst bei Trypetidenlarven nicht zu beobachten ist. Einen ähnlichen Bau zeigten die wesentlich kleineren

Larven anderer Blattminierer, bei denen es sich wahrscheinlich um *Trypeta*-Arten gehandelt hat.

Bakteriologische Untersuchungen

1. Die Symbionten der Subfamilie Trypetinae und Tephritinae

Wie bereits erwähnt, lieferte der färberische Ausstrich, der unmittelbar von den Blindsäcken und den Darmabschnitten der Larven und dem Darm der Imagines angefertigt wurde, in allen Fällen das Bild gramnegativer Stäbchen. Die Anwesenheit grampositiver Kokken bzw. Stäbchen konnte auf diese Weise nicht festgestellt werden. Gleichzeitig bestätigte sich die von STAMMER (1929) gemachte Beobachtung, daß die Bakterien im Darm der Trypetiden im allgemeinen einen Dimorphismus zeigen, d. h., daß die Stäbchen im Darm der Larve als Kurzstäbchen vorliegen, im Darm der Imago eine gewaltige Verlängerung erfahren, sich aber kurz vor der Eiablage und damit der Übertragung auf die Nachkommen wieder zu Kurzstäbchen umbilden. Obwohl allerdings diese am Ausstrichpräparat gemachte Feststellung allein noch nicht beweist, daß es sich hierbei um ein und denselben Mikroorganismus handeln müsse, erscheint dies doch weitgehend wahrscheinlich. In den Ausstrichen, die nach dem Anwachsen der Bakterien aus der Kulturflüssigkeit gemacht wurden, scheinen jedoch die als lange Stäbchen oder als lange Fäden auftretenden gramnegativen Bakterien nicht immer mit dem eigentlichen Symbionten identisch zu sein, da sie nur in ganz seltenen Fällen vorhanden waren, während sich in sämtlichen Ausstrichpräparaten zusätzlich gramnegative Kurzstäbchen nachweisen ließen, und zwar in größerer Menge als alle übrigen Elemente. Trotz dieser Tatsache soll aber nochmals betont werden, daß die unter dem Mikroskop feststellbare Länge und Dicke eines Bakteriums kein hinreichendes Kriterium ist, da es bekanntlich sehr leicht möglich ist, beide durch Wachstum auf verschiedenen Nährböden zu verändern. Bei rascher Vermehrung werden die Bakterienpopulationen fast immer von Kurzstäbchen gebildet, während bei der Abnahme der Teilungsfreudigkeit infolge Erschöpfung des Nährbodens oder auf primitiven Mangelnährböden mehr und mehr das Auftreten von langen Stäbchen und häufig sogar Fäden zu beobachten ist.

Weiterhin treten in den Ausstrichpräparaten aus den flüssigen Spezialnährböden grampositive Bakterien nur selten auf. Ich konnte immer wieder die Beobachtung machen, daß grampositive Kokken nur in Ausnahmefällen im Darm der Larven in einer Häufigkeit von etwa 2—5% vorhanden waren, bei manchen Arten jedoch überhaupt nie. Dabei scheinen die Futterpflanzen oder deren Standort eine gewisse Rolle zu spielen, da z. B. bei den Larven von *Tephritis bardanae* aus

Arctium lappa von Schuttplätzen immer wieder eine Verunreinigung durch grampositive Kokken festzustellen war. Das Verhältnis von grampositiven Kokken zu gramnegativen Stäbchen nach dem Wachstum auf dem flüssigen Nährboden, das gleichzeitig als Maß für die tatsächlich im Darm befindliche Zahl gelten kann, beträgt etwa 1:1000. Dasselbe gilt auch für die gezüchteten, langen, grampositiven Stäbchen. Die Zahl der Imagines dagegen, die grampositive Elemente in ihrer Darmflora aufwiesen, vor allem derjenigen, deren Wachstum nicht unter sterilen Bedingungen erfolgte, war größer als bei den Larven.

Trotzdem war das Verhältnis grampositiv zu gramnegativ im Darm selbst das gleiche wie bei den Larven. So scheint die Annahme gerechtfertigt, daß es sich hier um Zufallskeime handelt, die mit der Nahrung aufgenommen werden, aber infolge des Vorhandenseins von gramnegativen Bakterien keine stärkere Vermehrung entfalten können. Kulturen aus den eigentlichen Symbiontenorganen der Tephritini wiesen dagegen niemals grampositive Elemente auf.

Wesentlich schwieriger gestaltete es sich jedoch, aus den anwesenden gramnegativen Bakterien den eigentlichen Symbionten herauszufinden. Schon sehr bald zeigte sich, daß vor allem aus den proventriculären Blindsäcken der Tephritisarten — aus diesen fast immer in Reinkultur — aber auch aus den Larven und Imagines der übrigen Arten sich mit größter Regelmäßigkeit ein und derselbe Keim züchten ließ. Seine leuchtendroten Kolonien auf Endoplaten fielen sofort auf. Sie sind auf die Bildung von aldehydartigen Substanzen aus dem Nährboden zurückzuführen, welche die durch zugesetztes Natriumbisulfit farblos gemachte Fuchsinlösung im Nährboden wiederum rot färbt. Alle sonstigen mit diesem Keim vergesellschaftet wachsenden gramnegativen Bakterien besaßen diese Eigenschaft nicht und traten niemals mit derselben Häufigkeit auf. Darauf jedoch werde ich später noch zurückkommen.

Es lag nun nahe, das Auftreten dieses Bakteriums bei allen gefundenen Trypetidenarten zu verfolgen. Das Bakterium ließ sich aus fast allen Larven bis zu 95% Häufigkeit züchten, während es bei den Puppen nicht immer möglich war den Keim zu kultivieren. Es läßt sich dies sehr leicht aus der Beobachtung erklären, daß, wie auch PETRI (1910) und STAMMER (1929) schon beschrieben haben, nur wenige Bakterien das Puppenstadium überdauern. Daß in diesem Stadium, wie PETRI (1910) behauptet, die Bakterien ihre Färbbarkeit verlieren, möchte ich bezweifeln. Ihre geringe Zahl wird es wohl wahrscheinlich unmöglich machen, sie auf dem Schnittpräparat aufzufinden. Bei den eben geschlüpften und nur wenige Tage alten Imagines trat das Bakterium ebenfalls mit großer Regelmäßigkeit auf, während bei einigen Wochen alten Fliegen, insbesondere aber bei gekescherten bzw. unter nicht sterilen Verhältnissen aufgezogenen, eine Kultivierung nur in etwa 20%

der Fälle möglich war. Denn die auftretenden Begleitkeime, die auch sonst außerhalb des Darmes unter saproben Verhältnissen zu leben vermögen, scheinen sich in der Kulturflüssigkeit, auch wenn sie nur in geringerer Anzahl vorliegen, besser zu vermehren. PETRI selbst war ja der Ansicht, daß der Symbiont „ein stetes Verhältnis mit dem Entwicklungszyklus der Fliege habe und seine Vermehrung in dem Innern des Gastes derart von der physiologischen Tätigkeit und dem anatomischen Baue dieses letzteren abhängt, daß er von ihm geschieden, sehr selten auf den künstlichen Kulturnährschichten saprophytisch vegetieren kann. Ein zu rascher Übergang von dem symbiontischen zu dem autotrophischen saprophytären Zustand tötet ihn“. Soweit PETRI (1910, S. 360).

Dennoch ist es gelungen, den Symbionten, auch die für *Dacus oleae* beschriebene *Pseudomonas savastanoi*, zu züchten. Ich möchte dies darauf zurückführen, daß unter anderem der Zusatz von Hefeautolysat zur Kulturflüssigkeit bei den Bakterien die sonst von den Epithelzellen des Darmes und der Blindsäcke abgeschiedenen Hormone und die mit der Nahrung in den Darmtrakt aufgenommenen Vitamine ersetzt, so daß ähnliche Lebensbedingungen wie im Organismus selbst geschaffen sind. Im übrigen ist bekannt, daß, wenn die großen Schwierigkeiten der ersten Anzucht im künstlichen Nährmedium überwunden sind, einer Weiterkultivierung auf gewöhnlichen Nährböden nichts mehr im Wege steht.

Die Isolierung des auf Endoplatten leuchtendrot wachsenden Keimes ergab in allen Fällen ein Bakterium, das unter bestimmten Umständen, in der Regel bei weniger günstigen, d. h. kargeren Lebensbedingungen, ein Pigment in den Nährboden abscheidet, das von grüner Farbe, fluoreszierend und wasserlöslich ist.

Durch das Auftreten dieses Pigments ist die Zugehörigkeit der Spezies zur Gattung *Pseudomonas*, Familie Pseudomonadaceae, gesichert. Noch nicht gesichert jedoch war, ob es sich bei den isolierten Bakterien jeweils um die gleiche *Pseudomonas*-Art handelte.

Es kam mir nun in erster Linie darauf an, bei allen untersuchten Trypetidenarten, die eingangs aufgeführt sind, dieses fast in allen Kulturen wiederkehrende Bakterium zu isolieren. Denn es schien zunächst nicht wahrscheinlich, daß die in verschiedenen Pflanzenteilen lebenden Arten der Trypetiden alle dieselbe *Pseudomonas*-Art als Symbionten in ihrem Darmtrakt besitzen sollten. Deshalb wurden alle „roten Keime“, die aus den in verschiedenen Infloreszenzen der einzelnen Kompositenarten sowie in Stengeln, Blättern und Früchten vorkommenden Trypetidenarten isoliert wurden und wegen ihres grünen, fluoreszierenden Pigmentes als Angehörige der Familie Pseudomonadaceae anzusprechen waren, auf ihre sonstigen Eigenschaften eingehend geprüft, um sie genau zu identifizieren.

Sehr auffällig war dabei die Feststellung, daß bei all diesen gezüchteten „roten Keimen“ nach einiger Zeit auf der Endoplatte neben, bzw. unter den leuchtendroten Kolonien farblose helle Kolonien zum Vorschein kamen. Ich habe in jedem Falle den roten Keim vom farblosen isoliert und ihn auf seine Eigenschaften hin geprüft, da auch der farblose Keim starke Fluoreszenz aufwies.

In der folgenden Tabelle werden nun die symbiontischen Bakterien in ihren Kultureigenschaften aufgeführt. Ich halte mich hierbei an den Bestimmungsschlüssel in BERGEYS Manual, weil nach diesem Prinzip noch am ehesten eine Einordnung in das System möglich erscheint. Alle „roten Keime“, die von den in Infloreszenzen lebenden Vertretern der Subfamilie Trypetinae ohne eigene symbiontische Einrichtungen, ebenso wie der Subfamilie Tephritinae mit zum Teil hochentwickelten Symbiontenorganen stammen, zeigen keinerlei Unterschiede in ihren Kultureigenschaften. Dasselbe gilt auch für die aus der übrigen Subfamilie der Trypetinae gezüchteten Bakterien, deren Larven in verschiedenem Milieu parasitieren.

Ich beschränke mich deshalb darauf, jeweils nur eine oder zwei symbiontische Bakterien aus den in verschiedenen Pflanzenteilen lebenden Arten anzuführen.

Aus den angeführten Daten ist zunächst zu ersehen, daß die rote und die farblose Modifikation jedes Bakteriums vollkommen identisch sind. Es gelingt nicht, den Keim in seiner roten Form rein zu züchten; ebenso spalten auch bei der farblosen Variante einzelne Kolonien wiederum auf und liefern die rote Modifikation. Auch bei der einmal durchgeführten Einzellkultur mittels Tuschetropfen konnte gezeigt werden, daß sich aus einer einzelnen Zelle einer „roten Kolonie“, in der Folge wieder rote und farblose Kolonien ergaben, womit der Beweis geliefert wird, daß es sich bei den roten und farblosen Kolonien um einen auch sonst bei den Bakterien häufig zu beobachtenden Formenwechsel (etwa ähnlich dem SR-Formenwechsel, VW-Formenwechsel, Wechsel zwischen spezifischer und unspezifischer Phase bei den Salmonellen) handelt. So müssen die rote und die farblose Modifikation als zu einer Art gehörig aufgefaßt werden.

Aus der Tabelle 2 geht weiter hervor, daß die Symbionten der in den verschiedenen Pflanzenteilen lebenden Arten unter sich wiederum völlig identisch sind. Ich möchte lediglich auf einige geringfügige Unterschiede hinweisen, die in minimalen Schwankungen des p_H -Wertes und weiterhin in der Peptonisation von Lackmusmilch liegen. So erscheint die hierbei entstehende klare Flüssigkeit, z. B. bei der roten und farblosen Modifikation des Bakteriums aus *Rhagoletis alternata* und *Acidia cognata* sowie bei der farblosen Modifikation aus der Spargelfliege (*Platyparea poeciloptera*), nicht hellgelb, sondern leicht bläulich.

Diese Modifikation dürfte sich in gleicher Weise erklären lassen und vermag nichts an der Tatsache zu ändern, daß es sich bei den Bakterien, die aus den in verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen lebenden Trypetidenarten gezüchtet wurden, um ein und denselben Symbionten handelt.

Obwohl in BERGEYS Manual 122 verschiedene *Pseudomonas*-Arten, die grünfluoreszierendes Pigment abscheiden, beschrieben sind, läßt sich der Symbiont mit keiner der aufgeführten identifizieren. Ich möchte ihn seiner hervorstechendsten Eigenschaft, seiner Veränderungsfähigkeit wegen, *Pseudomonas mutabilis* n. sp. nennen.

Daß es sich bei *Pseudomonas mutabilis* tatsächlich um das symbiotische Bakterium der beiden Subfamilien der Tephritinen und Trypetinen handeln muß, läßt sich durch verschiedene Tatsachen noch erhärten.

Es erscheint zunächst sehr merkwürdig und widerspricht auch allen Erwartungen, daß, obwohl die Larven in ganz verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen leben, sich ein in allen Kultureigenschaften vollkommen übereinstimmendes Bakterium züchten ließ. Ich möchte diese verblüffende Tatsache als ersten Beweis dafür anführen, daß es sich bei diesem Bakterium um den Symbionten handelt. Eine Verunreinigung des Untersuchungsmaterials selbst infolge unsteriler Präparation ist nicht denkbar, da der Darm nach der Präparation nochmals kurz keimfrei gemacht wurde und somit alle nur möglichen Vorkehrungsmaßregeln getroffen waren. Der stärkste Einwand, die Larven hätten während ihres Lebens in den Pflanzen Gelegenheit, dieses Bakterium mit der Nahrung aufzunehmen — ein Einwand, der bei den steril geschlüpften Fliegen in direkter Form entfällt —, ist selbstverständlich berechtigt. Um jedoch darüber Klarheit zu erhalten, habe ich immer wieder Kontrollversuche mit den Blütenböden der verschiedenen Kompositenarten, mit den in Frage kommenden Stengeln, Blättern und Früchten angestellt, und zwar nach oberflächlicher Sterilisation durch Abflammen oder durch Abspülen in Formalinlösung; teilweise ließ ich sie vollkommen unbehandelt. Das Ergebnis zeigte, daß aus allen Versuchsobjekten neben gramnegativen Stäbchen fast immer auch grampositive lange Stäbchen und grampositive Kokken züchtbar waren. Selbstverständlich handelt es sich bei den gramnegativen — allerdings in geringer Zahl — manchmal auch um *Pseudomonas*-Arten. Das ist nicht verwunderlich, da ja ein großer Teil von letzteren als auf Pflanzen vorkommend, zum Teil sogar als pflanzenpathogen beschrieben ist. Doch stimmten die Eigenschaften dieser Arten nicht mit denen von *Pseudomonas mutabilis* überein. Da zu wiederholten Malen auch die Blütenböden, Früchte und Stengel untersucht wurden, aus denen die Larven entnommen waren, und es auch so nicht glückte, den Symbionten daraus zu züchten, halte ich eine

Tabelle 2. *Symbiontische Bakterien der Subfamilie Trypetinae und Tephritinae*

Symbionten der und zwar aus	Infloreszenzenbewohner		Fruchtmünierer		Blattmünierer		Stengelmünierer	
	<i>Tephritis arnicae</i>		<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Acidia cognata</i>		<i>Platyparca pocilloptera</i>	
	rote	farblose Variante	rote	farblose Variante	rote	farblose Variante	rote	farblose Variante
Färbung	gramnegativ		gramnegativ		gramnegativ		gramnegativ	
Größe	$0,6-0,8 \mu \times 1,5-4,0 \mu$		$0,6-0,8 \mu \times 1,5-4,0 \mu$		$0,6-0,8 \mu \times 1,5-4,0 \mu$		$0,6-0,8 \mu \times 1,5-4,0 \mu$	
Beweglichkeit. . . .	1—4 Geißeln, lebhaft		1—4 Geißeln, lebhaft		1—4 Geißeln, lebhaft		1—4 Geißeln, lebhaft	
Koloniebildung auf Agar	flach durchscheinend, feucht glänzend, grün- fluoreszierendes Pigment		flach durchscheinend, feucht glänzend, grün- fluoreszierendes Pigment		flach durchscheinend, feucht glänzend, grün- fluoreszierendes Pigment		flach durchscheinend, feucht glänzend, grün- fluoreszierendes Pigment	
Dextrose-Bouillon .	Hautbildung		Hautbildung		Hautbildung		Hautbildung	
Dextrose- Gärrohrechen . . .	Säurebildung ohne Gas, aerob		Säurebildung ohne Gas, aerob		Säurebildung ohne Gas, aerob		Säurebildung ohne Gas, aerob	
Laktose- Gärrohrechen . . .	keine Säurebildung		keine Säurebildung		keine Säurebildung		keine Säurebildung	
Temperaturoptimum	20°C		20°C		20°C		20°C	
Indolbildung	—		—		—		—	
H ₂ S-Produktion . .	—		—		—		—	
Nitratreduktion . .	—		—		—		—	
Lackmusmilch . . .	peptonisiert hellgelb		peptonisiert hellgelb		peptonisiert bläulich		peptonisiert hellgelb, bläulich	
Gelatineverdauung	+		+		+		+	
Stärkeabbau	—		—		—		—	

Harnstoffangriff. .	Verwertung von	+		+		+		+		+	
		pH-Wert		pH-Wert		pH-Wert		pH-Wert		pH-Wert	
Glukose . . .	7,7	7,4	7,4	7,35	7,4	7,35	7,45	7,4	7,4	7,4	7,4
Laktose . . .	7,7	7,8	7,7	7,75	7,75	7,85	7,75	7,85	7,85	7,8	7,8
Maltose . . .	7,6	7,85	7,8	7,75	7,8	7,8	7,75	7,8	7,8	7,75	7,75
Saccharose . .	7,6	7,85	8,00	7,7	7,7	7,7	7,8	7,8	7,8	7,85	7,85
Raffinose . . .	7,7	7,75	7,75	7,7	7,7	7,75	7,8	7,45	7,4	7,4	7,4

Infektion durch Nahrungsaufnahme im Falle des symbiontischen Bakteriums für ausgeschlossen. Die Einwanderung der grampositiven Stäbchen und Kokken jedoch kann in der Hauptsache auf diese Weise erklärt werden, ebenso die der übrigen gramnegativen Arten. Für beide Fälle läßt sich ein Überdauern des Puppenstadiums feststellen, da sich manchmal auch aus den Tönnchen grampositive und andere gramnegative Elemente kultivieren ließen. Trotzdem möchte ich nochmals darauf hinweisen, daß die Zahl der Begleitkeime in den einzelnen Individuen nie über drei Arten hinausging, in vielen Fällen sogar überhaupt keine Begleitkeime auftraten. Als eines der hervorstechendsten Beispiele möchte ich die *Ceratitis*-Larven nennen, die keine eigentlichen Symbiontenorgane besitzen. Aus allen in derselben Frucht minierenden Larven ließ sich *Pseudomonas mutabilis* in Reinkultur züchten. Aus der befallenen Frucht dagegen war der Symbiont nicht kultivierbar, jedoch ein anderer gramnegativer Keim mit Kolonien von schleimiger Beschaffenheit.

Einen weiteren Beweis, daß es sich bei dem gezüchteten Bakterium um den Symbionten handelt, sehe ich darin, daß sich gerade aus den symbiontischen Organen der Tribus Tephritini zu etwa 85—90% *Pseudomonas mutabilis* in Reinkultur züchten ließ. Daß dies nicht ausschließlich der Fall war, ist selbstverständlich, da durch die Abtrennung der einzelnen Darmabschnitte mit dem Skalpell eine Bewegung und damit Verschiebung der Bakterien innerhalb des Darmtraktes nicht immer ganz zu vermeiden ist. Schließlich besteht auch keine Gewähr dafür, daß gramnegative Bakterien grundsätzlich nicht in der Lage sein sollten, vom Mitteldarm her in die Blindsäcke der Larve einzuwandern. Ebenso zeigt es sich, daß auch bei den Imagines, die eine besondere Region des Mitteldarmes als Wohnsitz der Bakterien haben, *Pseudomonas mutabilis* wesentlich häufiger auftritt als im Vorder- und Enddarm. Doch gilt auch hier das für das Abtrennen der Abschnitte Gesagte. Außerdem wird nach PETRI (1910) und STAMMER (1929)

kurz vor der Verpuppung ein großer Teil der Bakterien über den Enddarm abgestoßen. Allerdings gelang es mir trotz mehrmaliger Versuche nicht aus den Abscheidungen der Larven die Bakterien zu züchten. Sie blieben in allen Fällen steril. Bei den Imagines war, wie schon erwähnt, die Kultivierung wesentlich schwieriger, vor allem bei den gekescherten und den in Berührung mit den Infloreszenzen geschlüpften Exemplaren. Besonders häufig zeigte sich der Symbiont in Kulturen aus dem Eileiter und dem Ovipositor legefähiger Weibchen, wohin die Bakterien zur Übertragung auf die Eier verbracht werden.

Tabelle 3.

Untersuchte Arten	Larven		Puppen		Imagines	
	I	II	I	II	I	II
<i>Tephritis conura</i>	16	16	0	0	43	32
<i>Tephritis dilacerata</i>	0	0	7	5	71	53
<i>Tephritis cometa</i>	11	9	0	0	18	14
<i>Trypanea stellata</i>	18	13	0	0	21	12
<i>Xyphosia miliaria</i>	15	15	0	0	0	0
<i>Chaetostomella onotrophes</i>	44	31	0	0	25	15
<i>Rhagoletis cerasi</i>	55	42	0	0	0	0
<i>Rhagoletis alternata</i>	29	18	8	5	63	41
<i>Platyparea poeciloptera</i>	30	22	6	2	20	11
<i>Ceratitis capitata</i>	15	15	0	0	0	0

I = Zahl der untersuchten Individuen; II = Häufigkeit des Auftretens des Symbionten.

Zur Veranschaulichung der Züchtungsergebnisse mag die beigefügte Tabelle dienen, die die Verhältnisse bei einigen Arten wiedergibt, von denen ich Gelegenheit hatte, eine genügende Anzahl von Individuen zu untersuchen. Denn ein Beweis mittels statistischer Methoden ist nur dann berechtigt, wenn durch die Masse die „Gefahr der kleinen Zahl“ ausgeschaltet werden kann.

Der lückenlose Beweis, daß *Pseudomonas mutabilis* der Symbiont ist, ist jedoch nur dann erbracht, wenn alle Entwicklungsstufen mit ihm infiziert bzw. vergesellschaftet sind. Daß auch bei den Puppen die Kultur möglich war (zu etwa 50 %), habe ich bereits ausgeführt, obwohl gerade hier nur ganz wenige Bakterien dieses Stadium überdauern und die Schwierigkeit der Anzucht deshalb besonders groß ist. Das wichtigste Zwischenglied jedoch würde das abgelegte Ei darstellen, das nach den Untersuchungen von STAMMER und PETRI (1910) beim Durchgang durch den Ovipositor mittels der Übertragungsrinnen mit dem Symbionten versehen wird. „Es ist mit einer Schleimhaut bedeckt, die der Vagina entstammt. Diese Schleimschicht ist am schwächsten am Mikropylenpol ausgeprägt, dagegen findet sich an dem bei der Eiablage vorangeleitenden

unteren Pol stets ein großer Schleimklumpen, in dem zahlreiche Bakterien eingebettet liegen“ (STAMMER 1929, S. 503). Leider gelang es nur, die Spargelfliege (*Platyparea poeciloptera*) und *Rhagoletis alternata* zur Eiablage zu bringen. Obwohl die Imagines der übrigen Arten bei Fütterung ein Alter von drei bis vier Wochen erreichten und durch Zugabe von Blütenköpfen ihre natürliche Umgebung nachgeahmt wurde, kam es nie zur Kopulation und Eiablage. Die Eier ließ ich in kleinsten Stückchen des Stengels bzw. der Frucht ablegen, welche vorher völlig keimfrei gemacht waren. In beiden Fällen ließen sich von allen untersuchten Eiern die Symbionten, d. h. *Pseudomonas mutabilis* züchten. Damit war die Beweiskette geschlossen und wenigstens bei diesen beiden Arten ein Zweifel daran, daß es sich bei der gezüchteten *Pseudomonas*-Art um den Symbionten handelt, völlig ausgeschlossen. Kontrollversuche, die gleichzeitig an Stengeln und Früchten vorgenommen wurden, verliefen negativ. Ebenso zeigten steril aus den Ovarien präparierte Eier niemals ein Wachstum.

Da es möglich war, von einigen Arten der Trypetiden genügend viele Larven zu erhalten, wurde auch der Agglutinationstest durchgeführt. Zur Verfügung standen Larven von *Tephritis conura*, *Rhagoletis cerasi* und *Platyparea poeciloptera*. Von ersterer Art wurden die Blindsäcke von etwa 350—400 Larven, von den beiden übrigen eine fast gleich große Anzahl von Därmen verarbeitet. Drei Kaninchen wurden über 6 Wochen hinweg, zweimal wöchentlich mit 0,5 cm³ der aus den Blindsäcken bzw. Därmen gewonnenen und mit Phenol konservierten Bakterienaufschwemmung (also insgesamt 6 cm³) intravenös immunisiert. Die Agglutination mit den jeweils aus der zugehörigen Larvenart gezüchteten Bakterien erfolgte bis zu einem Titer von 1:100, die übrigen aus anderen Trypetidenarten kultivierten *Pseudomonas mutabilis*-Keime wurden unterschiedlich bis 1:25 bzw. 1:50 agglutiniert.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß es sich bei den gezüchteten Bakterien um Varianten von *Pseudomonas mutabilis* handelt, bei dem Teilantigene um ein geringes gegeneinander variieren und so die Titerunterschiede bedingen. Eine Agglutination mit *Pseudomonas savastanoi*, *Agrobacterium luteum* (s. S. 506) und anderen Begleitkeimen war nicht zu beobachten.

Damit scheint nun gesichert, daß die aus den einzelnen Trypetidenarten isolierten symbiontischen Bakterien dieselben Kultureigenschaften besitzen und sich ihren agglutinatorischen Fähigkeiten zufolge als Varianten von *Pseudomonas mutabilis* erweisen. Auf Grund dieser Tatsachen kann als erwiesen gelten, daß *Pseudomonas mutabilis* der Symbiont aller untersuchten Angehörigen der Subfamilie Trypetinae und Tephritinae ist.

2. Die Symbionten der Subfamilie Dacinae

Über die Symbiose der Subfamilie Dacinae liegen drei Arbeiten von PETRI vor. Seine letzte Veröffentlichung stammt aus dem Jahre 1910, in der er die symbiontischen Einrichtungen von *Dacus oleae*, die wechselseitigen Beziehungen zwischen Wirt und Symbionten und deren Übertragung eingehend beschreibt. Nach den Angaben von PETRI handelt es sich um einen Mikroorganismus, der auch auf den Olivenbäumen vorkommt und von ihm *Ascobacterium luteum* genannt wird. Es bildet in den Blindsäcken der Larve mit dem eigentlichen Symbionten Mischkolonien. Als diesen tatsächlichen Symbionten vermutet PETRI (1910) das *Bacterium savastanoi* SMITH, das gleichzeitig als der Erreger der Rogna (Rotz) bei den Olivenbäumen angesehen wird. Es ist ihm nicht gelungen, das *Bacterium savastanoi* SMITH aus *Dacus* selbst zu kultivieren. Er schreibt: „Das einzige Mittel, um seine Identität mit dem Rotzbacillus nachzuweisen, besteht darin, daß man die Bakterien der Schlunddrüse, welche aus einer vor kurzem in sterilem Mittel geborenen Fliege stammen, den Olivenästen einimpft. So kann man gewöhnlich typische Rotztuberkel erlangen, aus welchen man durch die üblichen Verfahren einen Organismus isolieren kann, der mit dem *Bacterium savastanoi* identisch ist. Solange es nicht möglich ist, ein Nährsubstrat zu erlangen, welches eine vom Insektdarm direkt isolierte Bakterienkultur gestattet, kann der Zweifel, ob *Bacterium savastanoi* wie *Ascobacterium luteum* eine Unreinigkeit darstellen, nicht gänzlich schwinden.“ Soweit die Ausführungen PETRI (1910, S. 360). Vielleicht darf bereits an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß es sich bei den aus *Dacus* entnommenen und in die Olivenbäume überimpften Bakterien nur um eine Mischpopulation beider handeln konnte.

Ferner behauptet PETRI (1910), daß das *Ascobacterium* lediglich von der Larve auf die Imago weitergegeben werden kann — eine Übertragung auf das Ei kommt nur in seltenen Fällen vor —, der Symbiont jedoch bei der Eiablage durch Absonderung der Analdrüsen übertragen wird. Das *Ascobacterium* dagegen soll nach PETRI sogar über den After in den Enddarm eindringen und von hier aus erst in die Blindsäcke einwandern.

Über das *Ascobacterium luteum* liegen ferner Arbeiten von PETRI aus den Jahren 1904 und 1905 vor, in denen er das aus den Blindsäcken gezüchtete *Ascobacterium* nach verschiedenen Richtungen hin beschreibt. Er war damals noch der Ansicht, daß dieses *Ascobacterium* der Symbiont von *Dacus oleae* sein müsse. Leider sind seine Angaben, die sich lediglich auf eine genaue Beschreibung der Kolonien, deren Größe und Farbe beschränken, für unsere heutigen Anforderungen nicht genügend, um damit ein Bakterium hinreichend zu identifizieren. Das einzige genauere Kennzeichen liegt vielleicht in der Angabe, daß es sich um einen Bazillus von kokkiformer Gestalt handelt, der lipolytische Fähigkeiten aufweist.

Da beide Bakterien auch in naher Beziehung zu der Entstehung der Rotztuberkeln bei Olivenbäumen stehen, sollen an dieser Stelle auch die diesbezüglichen Untersuchungen, soweit erforderlich, Erwähnung finden. Eine im Jahre 1907 erschienene Arbeit PETRI's versucht die bis dahin von ihm selbst und von verschiedenen anderen Forschern vorliegenden Ergebnisse über den Erreger der Rogna zusammenzufassen und gleichzeitig zu klären. Es ist sehr schwer, diese Verhältnisse zu durchleuchten, da die Forscher, wie es den Anschein hat und sie auch gegenseitig von sich behaupten, keine Reinkulturen von Bakterien vor sich hatten. PETRI gibt drei Arten von Bakterien an, die er unter dem Sammelnamen *Bacillus oleae* (Arc.) Trev. in ihren Kultureigenschaften aufführt.

Es handelt sich dabei um *Bacillus oleae* α (SMITH), um *Bacillus oleae* β und *Bacillus oleae* γ (BERLESE = *Bac. oleae tuberculosis* = *Ascobacterium luteum* BABES). Leider ist auch hier die Beschreibung der Eigenschaften so ungenau, daß sie keine sichere Diagnostik für den bedeutet, der dieselben Bakterien zu züchten hat. Lediglich der von SMITH isolierte und beschriebene *Bacillus oleae* α , den auch PETRI seinen Versuchen zufolge als den wirklichen Erreger der Rogna bezeichnet, ist in mehreren Kultureigenschaften angegeben.

Vergleicht man die von PETRI für diese drei Mikroorganismen in Tabellenform aufgeführten diagnostischen Merkmale, so kommt man zu der Ansicht, daß es sich bei *Bacillus oleae* γ , wahrscheinlich auch bei *Bacillus oleae* α nicht um Reinkulturen handeln kann. Wahrscheinlich hat PETRI, als er seine Untersuchungen über die Identität des Rotzbazillus durchführte, nicht mit einer Reinkultur von *Bacillus oleae* α = *Bacterium savastanoi*, sondern mit einer Mischkultur von α und γ gearbeitet. Dies ist um so eher zu vermuten, als er selbst bestrebt war, das Aussehen der Mischkolonien anzugeben, die aus den beiden Bakterien entstehen, wenn sie jeweils nach Wachstumsdauer, Alter und Üppigkeit verschieden sind. Er selbst meint, daß, entgegen seiner 1905 geäußerten Ansicht, „sogar die Gegenwart des Zentralkernes aus gekapselten Elementen an und für sich kein sicheres Urteil über die Reinheit der *Ascobacterium*-Kolonien gestattet (PETRI 1907, S. 536).

Ein Jahr nach PETRI veröffentlichte 1908 E. F. SMITH, drei Jahre nach seiner ersten Arbeit, seine „Recent Studies of the Olive-tubercle Organism“. Er bemühte sich mit Erfolg, die auf diesem Gebiete vorliegenden Untersuchungsergebnisse, deren erste von ARCANGELI bereits aus dem Jahre 1886 stammen, zu ordnen. Bei seinen Impfversuchen bestätigte er aufs neue seine Feststellungen aus dem Jahre 1905, daß der *Bacillus oleae* α SMITH als der eigentliche Erreger der Rogna anzusehen sei. Er gibt ihm die Bezeichnung *Bacterium savastanoi* und liefert eine eingehende Beschreibung dieses Mikroorganismus, die sich wiederum weitgehend mit dem äußeren Aussehen und der Größe der Kolonien

befaßt. Eine zweite Beschreibung gilt dem *Bacillus oleae* β dem SCHIFF-GIORGINISCHEN Mikroorganismus, die aber infolge ihrer Unvollständigkeit nicht zur Aufnahme in BERGEYS Manual führte. Obwohl SMITH schreibt: „During this study it was learned that a yellow schizomycete, perhaps more than one, quite frequently accompanies or follows the parasite“ (1908, S. 126), geht er auf diesen überhaupt nicht ein.

Soweit die Ergebnisse früherer Forscher. Die Ausführungen beweisen, daß sowohl im Falle der Rogna als auch der symbiontischen Bakterien der *Dacus oleae* keine letzte Klarheit erreicht werden konnte.

Das Material, das mir für meine Untersuchungen zur Verfügung stand, war leider nicht besonders umfangreich. Ein großer Teil der übersandten Larven der *Dacus oleae* hatte sich nicht nur schon verpuppt, sondern war bereits vorher ausgeschlüpft, ein anderer hatte schon die Bakterien aus den larvalen Blindsäcken ausgestoßen. Es handelte sich um Larven, Puppen und Imagines der Herbstgeneration. Es gelang mir in fast allen Fällen sowohl aus den Blindsäcken der Larven als auch aus den einzelnen Darmabschnitten der Larven und Imagines ebenso bei den Tönnchen ein Anwachsen der Bakterien auf dem Spezialnährboden zu erzielen. Die Kolonien auf festen Nährböden sowie das mikroskopische Ausstrichpräparat deuten darauf hin, daß es sich auf Grund der verschiedenen Länge der Bakterien um Mischkulturen von mindestens zwei Bakterien handeln könne. Grampositive Stäbchen traten in einigen Fällen auf. Die auf Agar-Agar ausgestrichenen, zuerst farblosen Kolonien nahmen zum Teil jeweils nach einigen Tagen bei stärkerem Wachstum eine gelbe Farbe an, andere blieben mehr weiß, wobei die einzelnen Angaben PETRIS bezüglich der Farbveränderung bei Mischkulturen von *Pseudomonas savastanoi* und *Ascobacterium luteum* von farblos über strohgelb zu lichtgelb beobachtet werden konnten. Vermutlich handelt es sich um Mischkulturen dieser beiden Mikroorganismen. Die Isolierung bereitete große Schwierigkeiten und ergab zunächst einzelne Kulturen, die auf Agar gelb gewachsen waren und deren Prüfung auf Lackmusmilch nach angemessener Zeit zur Peptonisation führte. Zum anderen lieferten sie farblose bis lichtgelbe Kolonien, die erst nach wochenlangem Stehen die Lackmusmilch peptonisierten, während sie schon in kurzer Zeit eine alkalische Reaktion zeigten. Die rein farblosen Kolonien dagegen ließen die Lackmusmilch alkalisch werden. Ein wesentlicher Unterschied im Ausstrichpräparat zeigte sich nicht. Nitrat wurde nicht reduziert, Gelatine nicht verflüssigt. [Die Methode nach CLARK (1955) war mir zu diesem Zeitpunkt noch nicht bekannt.] Auch ergaben die farblosen bzw. üblich als weiß bezeichneten Kolonien keine Abscheidung eines grünen, fluoreszierenden, wasserlöslichen Pigmentes in den Nährboden, eine Eigenschaft, die zwar von SMITH und PETRI selbst nicht erwähnt, in der letzten Beschreibung in

BERGEYS Manual 1948 nach BROWN (1932) jedoch für den von PETRI vermuteten Symbionten angegeben wird. Auf Grund dieser nicht beschriebenen Eigenschaft wurde das *Bacterium savastanoi* SMITH in der 1. Auflage von BERGEYS Manual 1923 als *Phytomonas savastanoi* und nicht als *Pseudomonas savastanoi* aufgeführt.

Obwohl die Eigenschaften eines Teiles der so erhaltenen Kulturen für das *Bacterium savastanoi* übereinstimmen, erschien mir doch auf Grund dieses grünfluoreszierenden Pigmentes das wirkliche Vorliegen dieses Bakteriums gegeben. Denn es wäre sonst durchaus möglich, daß es sich nicht um den gesuchten Symbionten, sondern um einen ähnlichen Begleitkeim handeln würde. Nach alledem mußte man an das Vorhandensein von Mischkulturen denken, die sich vorläufig, trotz aller Bemühungen, nicht vollkommen trennen ließen. Auch die Eigenschaften des gleichzeitig mit ihm zusammen wachsenden, an sich oft kokkiform erscheinenden zweiten Bakteriums decken sich fast vollständig mit denen der *Pseudomonas*, wie sie von PETRI für das Ascobacterium angegeben sind. Die Bildung von Kapseln konnte nicht beobachtet werden, da diese sich nur unter ungünstigen Lebensbedingungen ausbilden. PETRI (1905, S. 399) aber verzichtet in seiner ausführlichen Arbeit über diesen Mikroorganismus auf eine weitere Angabe von Eigenschaften, „da die Charaktere dieser Kolonien eine ganz sichere diagnostische Note darstellen“, eine Behauptung, die er, wie bereits erwähnt, 1907 nicht mehr aufrechterhält. Vielmehr ist er dann der Ansicht, daß „das Fehlen jeglichen Antagonismus zwischen den beiden Bakterien sehr leicht eine Verschmelzung der noch ganz kleinen, dem bloßen Auge unsichtbaren Kolonien zu einer einzigen Kolonie bewirkt“ (PETRI 1907, S. 535).

Da die durchgeführten Isolierungsversuche zunächst keine befriedigenden Ergebnisse zeigten und die Annahme, es müsse sich immer noch um Mischkolonien handeln, wahrscheinlich nicht ungerechtfertigt war, außerdem die anfallende Arbeit eine weitere eingehende Bearbeitung nicht gestattete, wurden die isolierten Kulturen auf Stichagar verbracht und, um sie zu erhalten, mehrere Male überimpft.

Als ich nun nach etwa $\frac{3}{4}$ Jahr zur Klärung der Verhältnisse diese Kulturen erneut auf Endoplatten ausstrich, stellte sich nach wenigen Tagen die Abscheidung eines grünen, wasserlöslichen Pigmentes ein. Gleichzeitig bestätigte sich die Vermutung, daß es sich immer noch um Mischkulturen handle, bei denen in einem Falle das fluoreszierende, im anderen Falle das nicht fluoreszierende Bakterium vorherrschend war. Das Isolieren gelang erst nach mehrmaligem Überimpfen vollständig, wurde jedoch dieses Mal durch das aufgetretene Pigment wesentlich erleichtert. Auch hier bestätigte sich so wiederum die Erfahrung, daß diese Pigmentbildung, wie bereits für *Pseudomonas mutabilis* erwähnt, nicht immer eintritt, und zwar fast nur unter Nahrungs-

mangel auf Primitivnährböden oder in Stichkulturen. Daraus läßt sich auch erklären, daß weder PETRI noch SMITH, die beide mit diesem Bakterium gearbeitet haben, dieses Pigment erwähnen. Die endgültige Isolierung ergab nun zwei, bereits auch nach dem Ausstrichpräparat verschiedene Bakterien. Im ersten Falle handelt es sich um gram-negative Kurzstäbchen von etwa $0,5-0,75\ \mu$ Dicke und $1,4-3,5\ \mu$ Länge. Letztere kann sich auf verschiedenem Nährsubstrat etwas verändern. Meistens treten sie nach dem Färben nicht klar heraus, sondern scheiden schleimige Stoffe aus und sind untereinander verkettet. Diese Beobachtung deckt sich mit den Angaben PETRIS (1910, S. 359), daß „die Bakterien in der Imago 24—48 Std nach der Geburt eine durchsichtige schleimige Substanz darstellen, die untereinander verkettete Anhäufungen bilden.“

Das zweite Bakterium stellt sich nach dem Ausstrichpräparat meist als kokkiform dar ($0,5-0,8\ \mu$ dick und $1,0-1,6\ \mu$ lang), doch ergeben Veränderungen des Nährbodens auch eine mögliche Verlängerung zu sehr kurzen und dicken Stäbchen. Die genaue Überprüfung der Kultureigenschaften beider Bakterien lieferte folgende Ergebnisse, die in Tabelle 4 aufgeführt sind.

Aus dieser Tabelle läßt sich entnehmen, daß es sich bei der Reinkultur von Bakterium 1 tatsächlich um *Pseudomonas savastanoi* SMITH = *Bacterium savastanoi* SMITH = *Phytomonas savastanoi* SMITH handelt, da es in allen angeführten Kultureigenschaften mit ihm übereinstimmt. Somit ist die bloße Vermutung PETRIS durch die direkte Anzucht des Symbionten aus *Dacus oleae* bestätigt.

Bei Bakterium 2 müßte es sich um das *Ascobacterium luteum* handeln, soweit sich dies auf Grund der angegebenen tatsächlich spezifischen Merkmale sagen läßt. Vergleichen wir nun die genauen Daten der beiden Bakterien mit den Beschreibungen von PETRI für den *Bacillus oleae* α , β und γ aus den Rotztuberkeln, so wird man wohl zu dem Schluß kommen müssen, daß es sich bei seinem *Bacillus oleae* γ = *Ascobacterium* nicht um eine Reinkultur, sondern um eine Mischkultur von *Pseudomonas savastanoi* und *Ascobacterium luteum* gehandelt hat. Daraufhin deutet die Angabe über zuerst weiße, fast farblose Kolonien, die langsame Gelatineverflüssigung, das Unverändertbleiben der Lackmusmilch und die Beweglichkeit, Beobachtungen, die ich an den Mischkulturen ebenfalls machte. Es spricht alles dafür, daß es sich um eine Mischkultur gehandelt hat, bei der das *Ascobacterium* nicht in größerer Menge beteiligt war, so daß seine Eigenschaften, wenigstens soweit sie von PETRI beschrieben sind, sich an und für sich mit denen der *Pseudomonas savastanoi* decken.

Zunächst aber läßt sich zusammenfassend feststellen: Es ist mir gelungen, den von PETRI vermuteten Symbionten aus den Larven,

Tabelle 4

	<i>Bacterium 1</i> = <i>Pseudomonas savastanoi</i>		<i>Bacterium 2</i> = <i>Ascobacterium tuteum</i>	
Färbung.	gramnegativ		gramnegativ	
Größe.	0,5—0,75 × 1,4—3,5 } Kurzstäbchen		0,5—0,8 × 1,0—1,6 } kokkiform	
Beweglichkeit . . .	1—4 Polargeißeln lebhaft beweglich		keine Polargeißeln unbeweglich	
Koloniebildung auf Agar.	flach, feucht glänzend, durchscheinend, grünfluo- reszierendes, wasser- lösliches Pigment		flach-kugelig, feucht glänzend, milchig weiß	
Dextrose-Bouillon. .	keine Haut		keine Haut	
Dextrose-Gärröhrchen	Bildung von Säure ohne Gas, aerob		keine Säurebildung, aerob	
Laktose-Gärröhrchen	keine Säurebildung, aerob		keine Säurebildung, aerob	
Temperaturoptimum	20° C		20° C	
Indolbildung. . . .	—		—	
H ₂ S-Produktion . .	—		+	
Nitratreduktion . .	—		—	
Lackmusmilch . . .	alkalisch		peptonisiert (nach langer Zeit)	
Gelatineverdauung .	—		+	
Stärkeabbau	+		—	
Harnstoffangriff . .	+		—	
Kapselbildung . . .	—		+ (selten zu beobachten)	
Verwertung von		pH-Wert	pH-Wert.	
Glukose	7,7	7,4	7,8	
Laktose	7,7	7,8	7,75	
Maltose	7,6	7,8	7,75	
Saccharose. . . .	7,6	7,4	7,85	
Raffinose	7,7	7,7	7,7	

Puppen und Imagines von *Dacus oleae* zu züchten, ebenso das meist mit ihm zusammen im Darm vorkommende *Ascobacterium*. Für das letztere war bis jetzt infolge der fehlenden genauen Daten eine Einordnung nach dem Bestimmungsschlüssel von BERGEY nicht möglich. Deshalb ist es lediglich ohne Beschreibung seiner Kultureigenschaften im Anhang aufgeführt. Die im Jahre 1896 von BABES und auch noch von PETRI vorgenommene Zuordnung zur Gattung *Ascobacterium* wegen

des Auftretens von gekapselten Elementen ist heute nicht mehr vertretbar. Auf Grund seiner Eigenschaften dürfte der vorliegende Mikroorganismus zur Familie Rhizobiaceae gehören. Die Familie umfaßt drei Gattungen, von denen *Rhizobium* sich auf Leguminosen findet, die zweite, *Chromobacterium*, ein violettes Pigment erzeugt, während die dritte Gattung *Agrobacterium* als pflanzenpathogen an Wurzeln vorkommt, beziehungsweise Hypertrophien an den Zweigen hervorruft, ohne freien Luftstickstoff zu fixieren.

Da die wenigen zur Gattung *Agrobacterium* gehörenden Arten, die fast alle zuerst als *Phytomonas* oder *Pseudomonas* beschrieben wurden, fast ausnahmslos Kapselbildung zeigen und auch die sonstigen Eigenschaften nicht sehr stark von denen des *Ascobacterium* abweichen, vor allem Kohlenhydrate nicht unter Säurebildung abgebaut werden, ist es wahrscheinlich, daß das *Ascobacterium luteum* zu dieser Gattung gehört. Ich möchte es deshalb als *Agrobacterium luteum* bezeichnen.

Nicht ganz von der Hand zu weisen ist schließlich sogar die Vermutung, daß nicht *Pseudomonas savastanoi*, sondern das *Agrobacterium* die Rotztuberkeln hervorruft. Um dies nachzuweisen, wären allerdings ausgedehnte Impfversuche an Olivenbäumen notwendig. Ich bin gerne bereit, die gezüchteten Reinkulturen dieser beiden Bakterien für Impfversuche, die ich leider nicht selbst durchführen kann, zur Verfügung zu stellen.

PETRI gibt an, daß *Pseudomonas savastanoi* regelmäßig in *Dacus oleae* vorkommt, und so scheint es sicher, daß es sich bei diesem Mikroorganismus um den Symbionten handelt. Der tatsächliche Beweis ließe sich nur durch eine große Zahl von untersuchten Individuen erhärten oder durch die Kultivierung und Identifizierung der Bakterien vom abgelegten Ei. *Ascobacterium* = *Agrobacterium luteum* dagegen ist ein Begleitkeim, dessen Bedeutung für *Dacus oleae* zunächst noch ungeklärt ist. Auch lassen sich diese Ergebnisse nicht auf die ganze Subfamilie ausdehnen, da für die Untersuchungen nur *Dacus oleae* GMELIN zur Verfügung stand.

3. Begleitkeime

Wie schon in den vorangegangenen Abschnitten erwähnt, wurden in vielen Fällen neben dem eigentlichen Symbionten Begleitkeime gezüchtet. Dabei handelte es sich 1. um grampositive Stäbchen, 2. um grampositive Kokken, 3. um gramnegative Elemente von mehr oder weniger großer Länge. Die grampositiven Bakterien sind in der Minderzahl, und die Häufigkeit ihres Auftretens liegt bei Larven durchschnittlich zwischen 5 und 10% (entsprechend bei Puppen und steril geschlüpften Imagines), bei den gekescherten und nicht steril geschlüpften Fliegen zwischen 10 und 20%. Bei den isolierten grampositiven Kokken

handelt es sich in der Regel um *Staphylococcus aureus* oder ihm sehr nahe stehende Arten. Die grampositiven langen Stäbchen — kurze grampositive Stäbchen ließen sich niemals züchten — waren Angehörige der *Subtilis*-Gruppe.

Diese treten auch mit großer Regelmäßigkeit in den Blütenköpfen der Kompositen auf, so daß sie, wie bereits ausgeführt, auf dem Wege der Nahrungsaufnahme in den Darmkanal gelangen. Erstaunlich allerdings ist es, daß ihre Zahl neben den gramnegativen Bakterien äußerst gering ist, was die Annahme nahe legt, daß sie entweder durch Verdauung unschädlich gemacht oder in ihrer Vermehrung durch antibiotische Fähigkeiten der gramnegativen Flora gehemmt werden.

Bei den gramnegativen Elementen jedoch liegen die Verhältnisse sehr viel komplizierter. Denn die Zahl der Arten, die ich im Verlaufe meiner Untersuchungen als Begleitkeime des Symbionten isolieren mußte, war so hoch, daß es mir zeitlich unmöglich war, diese alle in ihren sämtlichen Eigenschaften zu erfassen. Zudem ist es bei den meisten nicht möglich, sie ihren Daten zufolge mittels des Bestimmungsschlüssels von BERGEY mit einer der beschriebenen Arten zu identifizieren. Um dennoch einen kurzen Ausschnitt aus der Fülle dieser Begleitkeime zu geben, führe ich in nachstehender Tabelle eine kleine Anzahl von ihnen auf. Ihre Bestimmung jedoch gelang meistens nicht, da nur wenige von ihnen beschrieben sind. So konnte nur für manche von ihnen eine Einordnung zu einer ihnen nahestehenden Art vorgenommen werden.

Hinweise auf die Bedeutung der Symbiose

Jede Symbiose wirft die Frage auf, welchen Vorteil der Wirt aus ihr zieht. Zur Diskussion dieser Frage, nicht zu ihrer Klärung, möchte ich von einigen Versuchen berichten, die ich im Rahmen der Arbeit durchführen konnte. So sollte durch Abwandlung des Nährbodens der Stoffwechsel der symbiontischen Bakterien und seine Auswirkungen auf das Wirtstier geklärt werden. Insgesamt wurde das Verhalten von *Pseudomonas mutabilis* (isoliert von den in verschiedenen Pflanzenteilen lebenden Trypetidenarten), von *Pseudomonas savastanoi* und *Agrobacterium luteum* geprüft. Zu diesem Zweck wurde ein synthetischer Grundnährboden folgender Zusammensetzung verwendet:

Aqua dest.	1000	(NH ₄) ₂ SO ₄	10
KH ₂ PO ₄	5	Na-Citrat	0,5
K ₂ HPO ₄	7	pH =	7,2
MgSO ₄	0,1		

Dieser Grundnährboden wurde durch Zugabe verschiedener Verbindungen entsprechend abgewandelt. So enthielten, wie aus Tabelle 6 ersichtlich, die Nährböden 1—5 überhaupt keine N₂-Quelle und sollten den Beweis erbringen, ob eine Assimilation von Luftstickstoff stattfindet. Um auch jeglichen Einfluß von NH₃ aus der Luft auszuschalten,

Tabelle 5. Begleitkeime

Begleitkeime aus	<i>Acidia cognata</i>	<i>Acidia cognata</i>	<i>Chaetostomella onotr.</i>	<i>Tephritis conura</i>
Übereinstimmend mit BERGERS Artbeschreibung für		<i>Erwinia atroseptica</i>		<i>Klebsiella</i>
Färbung	gramnegativ	gramnegativ	gramnegativ	gramnegativ
Größe	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen
Beweglichkeit. . .	lebhaft	lebhaft	unbeweglich	unbeweglich
Koloniebildung auf Agar	flach-kugelig, feucht glänzend, milchig weiß	flach-kugelig, feucht glänzend, milchig weiß	flach, grünlich-gelbes, nicht wasserlösliches Pigment mit Schwärzungsneigung	flach-kugelig, feucht glänzend, milchig weiß
Dextrosebouillon .	keine Haut	keine Haut	keine Haut	keine Haut
Dextrose-Gärröhrchen . .	keine Säure, aerob	Säure und Gas, aerob und anaerob	keine Säure, aerob	Säure und Gas, aerob und anaerob
Laktose-Gärröhrchen . .	keine Säure, aerob	Säure und Gas, aerob und anaerob	keine Säure, aerob	Säure und Gas, aerob und anaerob
Temperaturoptimum	20° C	20° C	20° C	20° C
Indolbildung	—	—	—	—
H ₂ S-Produktion. . .	+	—	—	—
Nitratreduktion. . .	+	+	—	+
Lackmusemilch . . .	peptonisiert	Koagulation mit Retraktion	peptonisiert, bläulich	unverändert
Gelatineverdauung	—	+	+	—
Stärkeabbau	—	+	kein Wachstum	+
Harnstoffangriff. . .	+	+	kein Wachstum	+

Verwertung von	p _H -Wert	p _H -Wert	p _H -Wert	p _H -Wert
Glukose . . .	7,7	7,8	7,05	kein Wachstum
Laktose . . .	7,7	7,75	7,55	kein Wachstum
Maltose . . .	7,6	7,9	7,35	kein Wachstum
Saccharose . .	7,6	7,75	7,15	kein Wachstum
Raffinose . . .	7,7	8,00	7,15	kein Wachstum
Begleitkeime aus	<i>Tephritis dilac</i>	<i>Ictericia westerm.</i>	<i>Sphenella marg.</i>	<i>Platyparea poec.</i>
Übereinstimmend mit BEKEYS Artbeschreibung für	<i>Erwinia carnegiana</i>	<i>Erwinia</i>		<i>Escherichia freundii</i>
Färbung	gramnegativ	gramnegativ	gramnegativ	gramnegativ
Größe	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen	Kurzstäbchen
Beweglichkeit . . .	lebhaft	lebhaft	gering	lebhaft
Koloniebildung auf Agar	flach-kugelig, durchscheinend, feucht glänzend	halbkugelig, durchscheinend, etwas schleimig	halbkugelig, undurchsichtig, matte Oberfläche, etwas schwärmend	halbkugelig, glänzend, milchig weiß
Dextrosebouillon .	keine Haut	keine Haut	keine Haut	keine Haut
Dextrose-Gärröhrchen . .	Säure und Gas, aerob und anaerob	Säure, aerob	keine Säure, aerob	Säure, aerob und anaerob
Laktose-Gärröhrchen . .	Säure und Gas, aerob und anaerob	Säure, aerob	keine Säure, aerob	Säure, aerob und anaerob

Tabelle 5. (Fortsetzung)

Begleitkeime aus	<i>Tephritis dilac</i>	<i>Icteria westerm.</i>	<i>Sphenella marg.</i>	<i>Ensina sonchi</i>	<i>Platyparia poec.</i>
Übereinstimmend mit BERGERS Artbeschreibung für	<i>Erwinia carnegieana</i>	<i>Erwinia</i>		<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia freundii</i>
Temperaturoptimum	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C
Indolbildung . . .	—	—	—	—	+
H ₂ S-Produktion . .	+	+	—	+	+
Nitratreduktion . .	+	+	—	+	+
Lackmusalb . .	Koagulation mit Retraktion	Reduktion	Reduktion	unverändert	unverändert
Gelatineverdauung	+	—	—	—	—
Stärkeabbau . . .	—	—	—	+	—
Harnstoffangriff . .	+	+	+	+	+
Verwertung von	p _H -Wert	p _H -Wert	p _H -Wert	p _H -Wert	p _H -Wert
Glukose . . .	7,4	7,4	7,85	6,15	6,15
Laktose . . .	7,05	7,55	7,8	7,8	7,9
Maltose . . .	7,7	7,25	7,9	7,9	7,9
Saccharose . .	7,5	7,25	7,9	7,95	7,95
Raffinose . .	7,35	7,7	7,8	7,85	7,85

wurden Kontrollversuche durchgeführt, indem durch Erhitzen die NH_3 -Reste aus den Röhrchen ausgetrieben wurden. Anschließend wurden sie in einen Exsiccator über konz. H_2SO_4 vor und nach dem Beimpfen verbracht. Der Zusatz von Bernsteinsäure (4) und Oxalessigester (5) sollte eine Angleichung an die in den Tieren gegebenen physiologischen Bedingungen schaffen. (Die sonst dafür verwendete Oxalessigsäure stand mir nicht zur Verfügung.)

Die Nährböden 6, 7 und 8 enthielten außerdem als einzige N_2 -Quelle $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Durch die Nährböden 9, 10 und 11 sollte der Abbau von Eiweißverbindungen, die in der Nahrung der Larven in großer Menge vorhanden sind, geprüft werden, mittels der Nährböden 12 und 13 der Abbau von Harnstoff und Harnsäure.

Die Ergebnisse der Tabelle 6 zeigen zunächst, daß sich die Symbionten, obwohl es sich um das gleiche Bakterium handelt, an die Ernährung des Wirtstieres angepaßt haben: 1. Das Wachstum von *Pseudomonas mutabilis* aus *Ceratitis capitata* ist auch noch auf Nährboden 1 ohne Zusatz von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ besser als das der übrigen. Denn die Ernährung durch den Fruchtsaft bringt besonders große Mengen Glukose in den Darmtrakt. 2. Aus demselben Grunde zeigt *Pseudomonas mutabilis* aus der Spargelfliege (*Platyparea poeciloptera*) auf dem raffinosehaltigen Nährboden (3) ohne Zusatz von Stickstoff ein besseres Wachstum. 3. Der Abbau von Leucin als N_2 -Quelle ist besonders gut bei *Pseudomonas mutabilis* aus den in Infloreszenzen lebenden Trypetidenarten und aus *Platyparea poeciloptera*, da die Blütenköpfe der Kompositen und die Spargelstengel nach der Feststellung mittels Papierchromatogramm das Leucin in sehr reichlichen Mengen enthalten. Der Abbau bzw. Wiederaufbau jedoch erfolgt nicht über NH_3 . 4. Dies trifft auch für Prolin zu, das ebenso auffallend gut von *Pseudomonas mutabilis* aus *Ceratitis capitata* als N_2 -Quelle verwertet wird, da es in größerer Quantität in Orangen enthalten ist.

Weiterhin zeigt sich, daß *Pseudomonas mutabilis* und *Pseudomonas savastanoi* auf N_2 -freien Nährböden nur schlecht zu wachsen vermögen. Wird jedoch dem stickstofffreien Nährboden (4) Bernsteinsäure zugesetzt, so tritt eine Steigerung des Wachstums ein. Auch diese Tatsache mag dafür sprechen, daß *Pseudomonas mutabilis* der Symbiont ist, da das *Agrobacterium* diese Fähigkeiten nicht besitzt. Erstaunlich jedoch ist, daß bei Zugabe von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zu Bernsteinsäure (7) das Wachstum zunächst vollständig gehemmt und diese Hemmung erst nach 8—10 Tagen von den Bakterien überwunden wird, auch von *Agrobacterium luteum*.

Oxalessigester ohne Zusatz von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (5) wird nicht verwertet und erzeugt kein Anwachsen, während unter Beigabe von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (8) ein normales Wachstum möglich ist. Oxalessigester wird dabei nicht angegriffen, wirkt aber auch nicht wachstumshemmend.

Tabelle 6

Nr.	Zusammensetzung des Nährbodens	<i>Pseudomonas mutabilis</i>					<i>Pseudomonas savastanoi</i>	<i>Agrobacterium tuleum</i>
		<i>Tephritis arnicae</i>	<i>Rhagoletis alternata</i>	<i>Ceratitis capitata</i>	<i>Acidia cognata</i>	<i>Platyparea poecioptera</i>		
1	1,0 Glukose ohne N ₂	+	+	++	+	+	+	+
2	1,0 Laktose ohne N ₂	+	+	+	+	+	+	+
3	1,0 Raffinose ohne N ₂	+	+	+	+	+	+	+
4	1,0 Laktose ohne N ₂ 0,1 Bernsteinsäure	+	+	+	+	+	+	+
5	1,0 Laktose ohne N ₂ 0,1 Oxalessigester	—	—	—	—	—	—	—
6	1,0 Laktose mit N ₂	++	++	++	++	++	++	++
7	1,0 Laktose mit N ₂ 0,1 Bernsteinsäure	anfangs — nach 8—10 Tagen ++	—	—	—	—	—	—
8	1,0 Laktose mit N ₂ 0,1 Oxalessigester	+	+	+	+	+	+	+
9	1,0 Glukose ohne N ₂ 0,1 Asparaginsäure	+	+	+	+	+	+	+
10	1,0 Glukose ohne N ₂ 0,1 Leucin	+	+	+	+	+	+	+
11	1,0 Glukose ohne N ₂ 0,1 Prolin	+	+	+	+	+	+	+
12	1,0 Glukose ohne N ₂ 0,1 Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+
13	1,0 Glukose ohne N ₂ 0,1 Harnsäure	+	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: Wachstum + — sehr gering; + gering; ++ mäßig; +++ sehr gut.

NH₃-Bildung: + befriedigend; ++ normal; +++ gut;

NH₃-Bildung: + befriedigend; ++ normal; +++ gut;

Auf Nährböden mit Zusatz von Harnstoff (12) und Harnsäure (13) als einzigen Stickstoffquellen erfolgte schon nach wenigen Stunden eine sichtbare Trübung, und das Wachstum war stärker als auf den anderen Nährböden. Nur das *Agrobacterium* vermag Harnstoff nicht abzubauen, wohl aber Harnsäure. Die Prüfung mit NESSLERs Reagens zeigte, daß in den Nährböden NH_3 entstanden ist.

In allen Fällen wurde nun auf papierchromatographischem Wege versucht, einen Aufbau von Eiweißstoffen festzustellen, weil diese Methode in ihrer Verbesserung auch den Nachweis geringster Mengen von Aminosäuren gestattet. Da sich in den Chromatogrammen kein Auftreten von Aminosäuren zeigt, dürfte es ausgeschlossen sein, daß die Symbionten in der Lage sind, freien Luftstickstoff zu assimilieren. Nur in den mit Harnsäure und Harnstoff versetzten Nährböden (12 und 13) bildeten sich neue Aminosäuren. Ein Kontrollversuch schloß die Verunreinigung der verwendeten Substanzen aus. Es liegt deshalb die Vermutung nahe, daß der Symbiont Fermente besitzt, die Harnstoff und Harnsäure spalten können. Bei den aufgebauten Aminosäuren handelt es sich um Asparaginsäure und Leucin.

Da Harnstoff, vor allem aber Harnsäure, in den MALPIGHISCHEN Gefäßen der Insekten gebildet und am Übergang in den Enddarm angereichert werden, ist es denkbar, daß die Symbionten diese beiden Verbindungen verwerten und durch den Aufbau von Aminosäuren mittels eines Ektoenzymes die in der Nahrung knappen Eiweißstoffe vermehren. Auch das *Agrobacterium* hätte sich demnach auf den Abbau von Harnsäure umgestellt. Interessant wäre es allerdings, ob auch das aus den Tuberkeln gezüchtete *Agrobacterium* dieses Vermögen besitzt.

Ob die Bakterien im Darm der Larven und Imagines selbst verdaut werden und damit zur Bereicherung der Eiweißnahrung beitragen ist nicht bekannt. PETRI (1910, S. 362) schreibt: „Aus meinen Untersuchungen geht hervor, daß eine Verdauung der Bakterienzellen in den Blindschläuchen niemals stattfindet. In dieser Hinsicht bin ich jedoch etwas im Zweifel, betreffs der Bakterienzellen, welche als übermäßiges Produkt ihrer Vermehrung fortwährend durch die Blindschläuche ausgeschieden werden.“ Nach dieser Annahme würden die Symbionten selbst als ständige Eiweißquelle dienen, was jedoch wohl schwer nachzuweisen ist.

Ziel weiterer Untersuchungen mag sein, ob die Bakterien darüber hinaus Wirkstoffe der Vitamin B-Gruppe und ähnliche Substanzen für ihre Wirte liefern.

Allerdings scheint, wie schon erwähnt, *Pseudomonas mutabilis* die Fähigkeit zu besitzen, auf Grund ihrer antibiotischen Eigenschaften grampositive Stäbchen und Kokken in ihrer Vermehrung sehr stark zurückzudrängen. Nach der Menge der vorkommenden grampositiven

Bakterien auf Blütenköpfen und Blättern ist es erstaunlich, daß nur wenige grampositive Keime sich gelegentlich im Darmtrakt finden, obwohl sie doch unbedingt mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Diese Tatsache bestätigte sich auch immer wieder bei der Anzucht der Bakterien. PETRI machte die Beobachtung, daß bei *Dacus-Imagines*, deren Schlunddrüse infolge der verspäteten Entwicklung der *Pseudomonas savastanoi* leer ist, häufig Infektionen durch Bakterien oder Pilze auftreten. Damit dürfte den symbiontischen Bakterien neben ihrer möglichen Aufgabe als Wirkstoff- und Eiweißlieferanten auch die wichtige Tätigkeit der Infektionsverhütung durch ihre starken antibiontischen Fähigkeiten zufallen.

Anzufügen ist noch, daß PETRI dem *Ascobacterium luteum* eine gewisse lipolytische Wirkung zuschreibt, die für die Larven der *Dacus* bestimmt von großem Wert ist. Ich selbst habe diese Versuche wiederholt, und es zeigte sich tatsächlich, daß allein von dem als *Agrobacterium* bezeichneten Bakterium eine Klärung der ölhaltigen Kulturflüssigkeit (Nährboden nach PETRI) einsetzte, die nach 12—14 Tagen abgeschlossen war. Auch damit mag bewiesen sein, daß dieses *Agrobacterium* mit dem *Ascobacterium* identisch ist.

In diesem Zusammenhang soll auch noch eine weitere interessante Beobachtung an *Pseudomonas mutabilis* und *Pseudomonas savastanoi* beschrieben werden. Wie bereits erwähnt, ist die leuchtendrote Farbe, die die Kolonien beider auf der Endoplatte zeigen, sehr auffällig. Für die Diagnostik bedeutet die Rotfärbung, daß der betreffende Keim in der Lage ist, die im Nährboden enthaltene Lactose abzubauen, so daß Aldehyd frei wird. Der auftretende Acetaldehyd bewirkt die Rotfärbung der beigefügten Fuchsinlösung, die durch Zusatz von NaHSO_3 entfärbt worden war. Nun fiel auf, daß weder *Pseudomonas mutabilis* noch *Pseudomonas savastanoi* die Lactose unter Säurebildung abbauen.

Um diese Verhältnisse zu kontrollieren, wurden Endoplatten hergestellt, die neben fuchsin-schwefliger Säure keine Lactose enthielten. Außerdem wurden zur weiteren Prüfung 1. ein Nährboden folgender Zusammensetzung verwendet: Aqua dest. 1000, Pepton 10, konz. alkoholische Fuchsinlösung 25, NaHSO_3 -Lösung 10% und 2. zu gewöhnlicher Bouillon ohne Kohlenhydrate fuchsin-schweflige Säure zugesetzt (wie bei 1).

Die Ergebnisse bestätigten die vorliegenden Erfahrungen. Alle roten Modifikationen der *Pseudomonas mutabilis* und der *Pseudomonas savastanoi* liefern auf diesen Endoplatten leuchtendrote Kolonien, die weißen Modifikationen der *Pseudomonas mutabilis* spalten auf. Auch auf den flüssigen Nährböden mit Peptonwasser entstehen rote Ringe, bzw. die gesamte Kulturflüssigkeit färbt sich rötlich. Lediglich auf gewöhnlicher Bouillon war in keinem Falle eine rote Farbstoffeinlagerung

zu beobachten. Vielleicht mag dies mit dem p_H -Wert des Nährbodens zusammenhängen. Somit scheint bewiesen, daß von diesen beiden Bakterien Eiweißstoffe so abgebaut werden, daß aldehydartige Substanzen entstehen. Ob dabei der Abbau über Azetaldehyd erfolgt, welche Zwischenstufen auftreten, kann nur durch langwierige Untersuchungen zum Stoffwechselgeschehen geklärt werden. Vielleicht aber ließe sich daraus ableiten, daß die Symbionten die mit der Nahrung der Wirtstiere aufgenommenen Eiweißstoffe verwerten und sie in anderer Zusammensetzung diesen wiederum zukommen lassen. Auch diese Vermutungen bedürften eingehender Untersuchungen. Interessant ist jedenfalls, daß es sich bei den Symbionten um Bakterien handelt, die einen besonderen Stoffwechsel haben, also sehr stark fermentaktiv sind, was auch die Peptonisation der Lackmusmilch beweist.

Zusammenfassung

1. Aus den Larven, Puppen und Imagines der in verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteilen lebenden Trypetidenarten der Subfamilien Trypetinen und Tephritinen konnte immer das gleiche Bakterium gezüchtet werden.

2. Die Anzucht dieses Bakteriums war nur unter Verwendung eines äußerst empfindlichen und hochwertigen Spezialnährbodens möglich, der den physiologischen Bedingungen weitgehend angeglichen ist, die dem Symbionten im Darm der Tiere geboten werden.

3. Das gezüchtete Bakterium wurde seinem Verhalten zufolge in die Gattung *Pseudomonas*, Familie Pseudomonadaceae, eingereiht. Da die Art nicht beschrieben ist, wurde das Bakterium auf Grund seiner hervorstechendsten Eigenschaft als *Pseudomonas mutabilis* n. sp. bezeichnet.

4. Eingehende Untersuchungen ergaben, daß *Pseudomonas mutabilis* der Symbiont ist. Dafür sprechen

a) die außerordentlich große Regelmäßigkeit, mit der dieses Bakterium aus den Larven und steril geschlüpften Imagines, besonders aber auch aus den Symbiontenorganen der Tribus Tephritini kultiviert werden konnte.

b) die Kultivierung dieses Bakteriums aus den in sterilem Medium abgelegten Eier von *Platyparea poeciloptera* und *Rhagoletis alternata*.

c) der positive Ausfall des Agglutinationstestes,

d) die Unmöglichkeit den Symbionten aus dem Milieu der Larven zu züchten.

5. Es gelang, den von PETRI vermuteten Symbionten von *Dacus oleae* (Subfamilie Dacinae), das Bakterium *savastanoi* SMITH aus den Larven, Puppen und Imagines zu kultivieren. Die Überprüfung seiner Kultureigenschaften ergab seine Identität mit der aus den Rotztuberkeln der Olivenbäume isolierten *Pseudomonas savastanoi*.

6. Der Begleitkeim der *Pseudomonas savastanoi* aus *Dacus oleae*, das *Ascobacterium luteum*, wurde ebenfalls isoliert und erstmals in seinen sämtlichen Kultureigenschaften bestimmt.

7. Auf Grund dieser Eigenschaften wurde das *Ascobacterium* in die Familie Rhizobiaceae zur Gattung *Agrobacterium* gestellt und als *Agrobacterium luteum* bezeichnet.

8. Als Begleitkeime von *Pseudomonas mutabilis* wurden grampositive Stäbchen, grampositive Kokken und gramnegative Stäbchen festgestellt. Ein Teil dieser Keime konnte in das System eingeordnet werden.

9. Versuche zum Stoffwechselgeschehen der symbiontischen Bakterien ergaben, daß sie sich weitgehend den Verhältnissen in den Wirtstieren angepaßt haben.

10. Sie weisen ferner darauf hin, daß die Bedeutung der Symbionten im Umbau von Harnsäure und Harnstoff liegen könnte, da in solchen Nährböden ein Neuaufbau von Eiweißstoffen festzustellen ist.

11. Besonders auf grampositive Begleitkeime üben die Symbionten eine kräftige antibiotische Hemmwirkung aus, so daß diese in ihrer Vermehrung sehr stark geschädigt werden.

12. Schließlich besitzen *Pseudomonas mutabilis* und *Pseudomonas savastanoi* die Fähigkeit, Eiweißverbindungen über aldehydartige Substanzen abzubauen.

Literatur

- BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 6. Aufl. Baltimore: Williams & Wilkins Company 1948. — BERLESE, A.: Gravi alterazioni batteriche dell'Olivio. Riv. Pat. veg. I Orig. 58 (1905). — BROWN, N.: Canker of ash trees produced by a variety of the olive-tubercle organism *Bacterium savastanoi*. J. Agricult. Res. 44, 701 (1932). — BUCHNER, P.: Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel u. Stuttgart: Birkhäuser 1953. — GLASGOW, H.: The gastric caeca and the caecal bacteria of the heteroptera. Biol. Bull. 26 (1914). — HENDEL, FR.: Trypetidae. Stuttgart: E. Schweizerbart 1927. — KELLNER, W., u. H. HELLMUTH: Untersuchungen zum Aminosäurestoffwechsel von *Bacterium coli*. Z. Hyg. 141, 1 (1955). — KELLNER, W., H. HELLMUTH u. H. MARTIN: Verbesserung des Nachweises geringster Aminosäuremengen. Naturwiss. 41 (1954). — MELIS, A.: Asservazioni Anatomo-Morfologiche sulle larve del *Dacus oleae* Rossi e del *Bibio hortulanus* L. Riv. Biol. 10 (1928). — PETRI, L.: Sopra la particolare localizzazione di una colonia batterica nel tubo digerente della larva della mosca *olearia*. Atti Accad. Lincei (5), Cl. Sci. fis., mat. e nat. 13 (1904). — Weitere vorliegende Mitteilung. Atti Accad. Lincei, Rend. 14 (1905). — Untersuchungen über die Identität des Rotzbazillus des Ölbaumes. Zbl. Bakter. 19, 531 (1907). — Untersuchungen über die Darmbakterien der Olivenfliege. Zbl. Bakter. II 26, 357 (1910). — Aus: Ricerche sopra i batteri intestinali della mosca *olearia*. Mem. Staz. Pat. veg., Roma 1909. — PHILLIPS, E.: The anterior peristigmatic glands in Trypetid larvae. Dep. Ent., Cornell University, Ithaca, New York. — SAVASTANO, L.: Tubercolosi, iperplasia e tumori nell'Olivio. I. u. II. Memoria Napoli 1887. — SCHIFF-GIORGINI, R.: Bakteriologische Untersuchung über *Bacillus oleae* (Arc.) Trev. Zbl. Bakter. II 12, 217 (1904). — Untersuchungen über die Tuberkelkrankheit

des Ölbaumes. Zbl. Bakter. **15**, 200 (1905). — SMITH, E. F.: Some observations on the biology of the olive tubercle-organism. Zbl. Bakter. II **15**, 198 (1905). — Recent studies of the olive tubercle-organism. Dep. Agric. Pl. Ind. Bull. **126** (1908). — STAMMER, H. J.: Die Bakteriensymbiose der Trypetiden (Diptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere **15**, 481 (1929). — Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. Overgedrukt Tijdschr. Entom. Dell. **55** (1952). — STEINHAUS, E. A.: Insect Microbiology. Ithaca: Comstock Publishing Co. 1946. — TOTH, L.: Die Rolle der Mikroorganismen in dem N₂-Stoffwechsel der Insekten. Zool. Anz. **146**, 191 (1951). — VIRTANEN, A.: Biological nitrogen fixation. Biochemic. J. **33** (1939). — WIGGLESWORTH, V.: The principles of insect physiology, 3. Aufl. London: Methuan & Co. 1947.

H. HELLMUTH, Nürnberg, Hallerstr. 23/II

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen

UNTERSUCHUNGEN ZUR SYMBIONTISCHEN BEDEUTUNG DER BLINDDARMFLORE DER NAGETIERE *

Von

WILHELM KELLNER

(Eingegangen am 15. Dezember 1955)

Inhalt	Seite
Einführung	518
Mikroskopische Untersuchungen der Darmflora	520
Untersuchungen der Darmflora in Kulturen	529
Plattenversuche	529
Züchtungsversuche in flüssigen Nährmedien	530
Züchtungsversuche in halbstarren Nährmedien	533
Tierversuche	533
Hinderung der Coecotrophie	534
Vitaminzusatzversuche	535
Proteinhaushalt	536
Bildung der Coecotrophe	537
Besiedelung des Neugeborendarmes	538
Keimfreie Aufzucht	541
Antibioticaversuche	544
Diskussion der Ergebnisse	547
Zusammenfassung	551
Literatur	553

Einführung

Die Ansichten über die biologische Bedeutung der Darmflora haben sich seit der Zeit Pasteurs, der als erster auf sie aufmerksam wurde, häufig gewandelt. Im Verlauf der seitdem vergangenen 70 Jahre schwankte die Meinung von der Anerkennung ihrer Wichtigkeit bis zu dem extremen Standpunkt eines METSCHNIKOFF, der den Darm als Ort der Autointoxikation ansah und *Bacterium coli* für die „Putrefaktion intestinal“ verantwortlich machte. Es war ein weiter Weg bis zu der Erkenntnis, welch bedeutende Rolle die obligaten Darmbakterien in der Ernährungsphysiologie spielen.

Der weitaus größte Teil der Untersuchungen über die bakteriellen Bewohner des Darmes wurde verständlicherweise der menschlichen Intestinalflora gewidmet. Es waren allerdings nicht die normalen Darmmikroben, denen über lange Zeit hinweg das bakteriologische Interesse galt, sondern die Erreger von mehr oder weniger gefährlichen Erkrankungen. Die gewöhnlich im Darm anzutreffenden Keime aber wurden kaum beachtet und nur nebenbei als Kommensalen ohne weiterreichende Bedeutung abgetan. Daß diese als saprophytisch angesehene

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

Flora jedoch durchaus nicht so völlig bedeutungslos ist, erkannte man zuerst in der Kinderheilkunde daran, daß Darmstörungen im Säuglingsalter stets mit einem Umschlagen der ursprünglich grampositiven in eine gramnegative Besiedelung einhergehen und die Lactobazillenflora durch eine solche aus Colibakterien verdrängt wird. Diese Feststellungen erwiesen sich jedoch erst in allerjüngster Zeit wiederum als nicht völlig zutreffend, insofern als es sich bei den die übliche *Bifidus*-Flora verdrängenden Colibakterien nicht um gewöhnliche, sondern um ganz spezielle und mit Hilfe der modernen serologischen Aufteilung auch wohl definierbare Rassen handelt. Trotzdem die ersten Beobachtungen sich nachträglich als nicht völlig richtig erwiesen, führten sie doch dazu, daß man die normale Flora des Säuglingsdarmes einer eingehenderen Untersuchung unterwarf. Es war ganz natürlich, daß sich davon ausgehend eine große Anzahl von Arbeiten anschloß, die sich auch mit den Verhältnissen beim Erwachsenen beschäftigten. Dies führte dazu, daß man über die physiologischen Verhältnisse des menschlichen Darmes — man kann wohl heute sagen, schon sehr gut — unterrichtet ist.

Wenn man demgegenüber die Untersuchungen vergleicht, die in der Literatur über die entsprechenden Verhältnisse bei Tieren vorliegen, dann muß man feststellen, daß es sich um wohl wenig mehr als spärliche Kenntnisse handelt. Es sind allenfalls noch die Keime näher untersucht worden, die als Erreger von Zoonosen wirtschaftliche Bedeutung haben oder die geeignet sind, auch als Ausgangspunkt menschlicher Infektionen oder gar Epidemien zu dienen. Darüber hinaus mußte es noch den Veterinär interessieren, bei Darmerkrankungen von größeren und deshalb wertvollen Haustieren die Ursache festzustellen und zu diesem Zweck sich mit der Darmflora dieser Tiere zu befassen. Das äußert sich z. B. auch darin, daß in *BERGEYS Manual* beim Pferd immerhin noch 18 Bakterienarten für den Magen-Darmkanal erwähnt sind.

Für Nagetiere aber liegen relativ wenige Bearbeitungen vor, und so sind für ein doch so häufig verwendetes Laboratoriumstier wie das Meerschweinchen beim Coecum 2 und für den übrigen Darm 4 Bakterienarten angegeben, wobei 4 von ihnen Spirochäten sind. In der Literatur finden sich auch sonst relativ wenig Angaben über die Darmflora der Nagetiere. Über das Meerschweinchen liegen Arbeiten von BAUMATZ, GUTSCHER, GROSSMANN, HERRELL, RUSCHMANN und ROLLE und MAYER (1953) vor. RUSCHMANN beschreibt die Flora als eine vorwiegend grampositive Darmflora und nennt namentlich „Staphylokokken, weniger vergrünende Streptokokken, grampositive Stäbchen und meistens auch einige Actinomycetenkolonien“. Die grampositiven Stäbchen werden vorwiegend der *Subtilis*-Gruppe zugeordnet. ROLLE u. MAYER (1954) fügen dem noch das Vorkommen eines Stäbchens der Lactobazillengruppe zu. Übereinstimmend wird von allen Autoren berichtet, daß *Bacterium coli* nicht zu

der normalen Darmflora des Meerschweinchens gehört. BAUMATZ (1925) beschreibt nur die Flora vom Magen- und Dünndarminhalt und führt dafür auf: *Bacillus subtilis*, Mikrokokken, Streptokokken, grampositive Fäden, Soor und spärlich *Bacterium coli*. GUTSCHER findet den Dünndarm des Meerschweinchens sehr keimarm und normalerweise frei von *Bacterium coli*, den Dünndarm der gesunden Ratte aber regelmäßig von *Bacterium coli* bewohnt.

Es erscheint deshalb wohl angebracht, sich mit den bakteriellen Verhältnissen des Blinddarms der Nager einmal etwas näher zu beschäftigen und den Versuch zu unternehmen, zu klären, welche Rolle bei diesen Tieren die Darmflora spielt¹.

Mikroskopische Untersuchungen

Ordnung Rodentia

Zur Klärung der Verhältnisse in der Zusammensetzung der Blinddarmflora bei den Angehörigen der Ordnung Rodentia wurden zuerst einmal nach GRAM und, wo es notwendig war, auch nach weiteren Spezialmethoden gefärbte Objektträgerausstriche des Blinddarminhaltes gesunder Tiere zugrunde gelegt. Dabei zeigten sich für die einzelnen Spezies folgende Ergebnisse:

Meerschweinchen (Cavia porcellus). Ausgegangen soll werden von den Verhältnissen beim Meerschweinchen, da mir von diesem reichlich für andere Untersuchungen verwendeten Laboratoriumstier stets eine Anzahl frisch getöteter Tiere zur Verfügung stand. Die Tiere entstammten drei örtlich weit voneinander entfernten Zuchten, einer in Oberfranken, der zweiten in Mittelfranken und der dritten aus dem Allgäu, so daß nicht etwa örtliche Besonderheiten ein einseitiges Bild gaben. Die Untersuchungen wurden sofort nach dem Entbluten der Tiere vorgenommen, um postmortale Veränderungen in der bakteriellen Zusammensetzung auszuschließen.

Das mikroskopische Bild der normalen Flora des Meerschweinchenblinddarms ergibt ein deutliches Vorherrschen von drei gramnegativen Mikroben.

1. Am auffälligsten davon ist ein großer 12—15 μ langer und 3—4 μ breiter, mehr oder weniger sichelförmig gebogener Keim mit spitzen Enden, der ohne Ausnahme bei allen gesunden Meerschweinchen angetroffen wird. Er neigt in einzelnen Exemplaren zur Gramlabilität. Als besonderes Charakteristikum gegenüber anderen Bakterien besitzt er häufig, aber nicht immer, ein chromatophiles Körnchen, das stets an der Innenseite der Biegung, in deren Mitte, und zwar nahe an der Wandung

¹ Herrn Prof. Dr. H. J. STAMMER danke ich besonders herzlich dafür, daß er mich auf die Bearbeitungswürdigkeit dieses Fragenkomplexes hingewiesen hat.

gelegen ist. Besonders hervorzuheben ist die elektive Färbbarkeit dieser Körnchen nach der Giemsa-Methode, wobei sie bläulich-violett tingiert werden. Aber auch im Grampräparat sind sie deutlich sichtbar. Es läge nun die Vermutung nahe, daß es sich dabei um eine besondere Anhäufung kernartiger Substanz handeln würde, und aus diesem Grunde versuchte ich die Darstellung sowohl nach der Original-FEULGENschen Methode, als auch in ihrer Abänderung nach REICHENOW mittels Salzsäurehydrolyse und ebenso die TROMMIERSche Färbemethode, gleichfalls wieder mit und ohne vorhergehende Hydrolyse. Nach diesen verschiedenen Methoden jedoch ergab sich kein Anhaltspunkt dafür, daß es sich bei diesen Körnchen um regelrechte Chromatinsubstanz handeln könne. Vielmehr zeigten die Präparate auch hier eine feine Verteilung der Kernsubstanz, wie sie auch bei anderen Bakterien zu beobachten ist. Auch Färbungsversuche mit den Kernfarbstoffen der Histologie, insbesondere mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und der Safraninmethode, ergaben keine verwertbaren Resultate. Die Keime sind monotrich begeißelt und im hängenden Tropfen gut, aber nicht allzu lebhaft beweglich. Charakteristisch ist ihre Fortbewegungsart. Sie schwimmen ein Stück vorwärts, bleiben dann an einer Stelle liegen, bewegen sich auch an der gleichen Stelle um ihre eigene Achse, um schließlich dann nach einiger Zeit wieder an einen anderen Ort weiterzuschwimmen. Dieses Verhalten erinnert sehr an das von Flagellaten, wie man überhaupt, wenn man sie zuerst sieht, viel eher noch an solche als an Bakterien denkt. Am ehesten kann man sie noch in die Verwandtschaft der Vibrionen stellen. Tatsächlich erscheint mir auch die Einreihung in das Genus *Cellfalcicula* WINOGRADSKY, Familie Pseudomonadaceae, nach allen geschilderten Merkmalen als berechtigt.

Rein zahlenmäßig macht dieses Bakterium etwa 30% der Gesamtbakterienpopulation des Meerschweinchenblinddarmes aus. Seiner für Bakterien enormen Größe wegen aber stellt es rein mengenmäßig wohl die Hälfte der vorhandenen Bakteriensubstanz dar.

2. Als nächst auffällige Bakterienart sind die in sehr hoher Anzahl vorhandenen, ebenfalls mit absoluter Regelmäßigkeit beim gesunden Meerschweinchen auftretenden Spirochäten zu nennen. Es handelt sich um eine relativ kleine und feinfädige Art mit nur wenigen (2—4 Windungen; oft aber ist sie auch derart wenig gewunden, daß sie beinahe mit einem Stäbchen der gleich noch zu besprechenden Art zu verwechseln ist. Ihre Länge beträgt bis zu 10μ , die Dicke liegt bei etwa $0,25\mu$. In der Ordnung Spirochaetales führt BERGEY nur eine zellulosespaltende Art, und zwar *Spirochaeta graminea* ZUELZER an. Sie ist aber bei weitem größer als die hier zu beobachtende und hat deshalb sicherlich nichts mit dieser zu tun. Zudem ist sie eine Bewohnerin von Flußwasser. Schließlich liegt auch kein Anhaltspunkt dafür vor, daß die hier interessierende

Spirochäte Zellulose angreift, vielmehr sprechen noch zu erörternde Untersuchungen eher dagegen. Da außer der spärlichen morphologischen Merkmale nur die im Dunkelfeld sichtbare, für Spirochäten charakteristische Bewegungsform anzuführen ist, fällt eine genauere Einreihung in die Ordnung Spirochaetales schwer. Die von BERGEY für den Meerschweinchenblinddarm aufgeführte *Treponema lari* LEBAILLY ist in der Originalliteratur leider so mangelhaft beschrieben, daß eine genaue Identifizierung auf Grund dieser Angaben nicht möglich ist. Immerhin mag sie für diese Art gelten, wenn nicht überhaupt mehrere Arten in Betracht kommen.

3. Als dritter Mikroorganismus ist ein gramnegatives Stäbchen von $0,3\text{--}0,5\ \mu$ Dicke und $4\text{--}8\ \mu$ Länge anzuführen. Beweglichkeit im hängenden Tropfen oder Dunkelfeld kann nicht beobachtet werden. Da außer seiner Züchtbarkeit auf Zellulose, auf die im kulturellen Teil eingegangen werden soll, nur geringe weitere biologische Merkmale festzustellen sind, fiel zunächst eine Einordnung in eine Familie nicht leicht. Denn auch die bei BERGEY aufgeführten gramnegativen Zellulose verdauenden Mikroorganismen sind in ihrer meist nur sehr spärlichen Beschreibung mit dem vorliegenden Keim nicht identisch. Wie später noch auszuführen sein wird, stelle ich die Art zum Genus *Cytophaga* und möchte sie als *Cytophaga rodentium* n. sp. bezeichnen.

Die Spirochäten und das gramnegative Stäbchen bilden zahlenmäßig 50—60% der Bakterienflora, wobei das Verhältnis zwischen den beiden Keimen, je nach der Fütterung der Tiere mehr oder weniger wechselt, und zwar überwiegen bei Grünfütterung der Tiere mehr die gramnegativen Stäbchen, bei der winterlichen Heu- und Rübenfütterung mehr die Spirochäten.

4. Neben dieser gramnegativen Flora ist zu der vermutlich obligaten Flora auch ein grampositives Stäbchen zu rechnen. Es zeigt etwa eine Dicke von $0,6\text{--}0,8\ \mu$ und $2\text{--}8\ \mu$ Länge. Im Normalfall liegen diese Stäbchen einzeln, doch sind zuweilen auch zwei oder drei als kurze Kette zusammenhängend zu beobachten. Sie machen keinen starren Eindruck, sondern zeigen häufig kaum merkliche Krümmungen, aber manchmal auch stärkere Biegungen. Bei längeren Stäbchen treten an dem gleichen Individuum häufig deutliche Dickenunterschiede auf, so daß sie in ihrem Bild schon von vorneherein auf ihre Zugehörigkeit zu der Familie Lactobacteriaceae hinweisen. Man hat auch manchmal den Eindruck, daß echte Verzweigungen angedeutet sind, aber den völlig sicheren Beweis dafür konnte ich nicht erbringen. Im Dunkelfeldpräparat erweisen sich die Stäbchen als unbeweglich. Über ihr weiteres Verhalten soll im kulturellen Teil noch berichtet werden. Diese vier beim Meerschweinchen ständig vorkommenden Keime scheinen für dieses Tier obligat zu sein. Wieweit sie als echte Symbionten anzusehen sind, d. h. wieweit ihnen

ihr Wirt nicht nur Wohnraum gibt, sondern auch Nutzen aus ihrer Anwesenheit zieht — er kann so weit gehen, daß ohne sie ein Fortleben in Frage gestellt wird —, soll in später zu schildernden Untersuchungen geklärt werden. Der Einfachheit halber soll im folgenden besonders von dem ersten Keim, der mir als der wichtigste erscheint, als Symbionten gesprochen werden.

Die außer den genannten zu beobachtenden Keime gehören wohl nicht zur eigentlichen obligaten Darmflora, seien aber doch der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Als auffällige Keime sind grampositive Kokken zu nennen, die sich bei der kulturellen Differenzierung als Enterokokken (*Streptococcus faecalis*) erweisen. *Staphylococcus albus* und *Staphylococcus aureus* sind weiterhin in manchen Fällen zu beobachten, können aber ebensogut auch fehlen.

Aus der Familie Mikroccaceae ist ferner eine Sarcine häufiger festzustellen, die durch ihre besonders großen Zellen auffällt. BERGEY beschreibt eine *Sarcina gigantea*, die im Mageninhalt von Staren vorkommt und mit dieser wohl identisch sein mag.

Die Familie Bacillaceae wird durch mehr oder weniger dicke Stäbchen vertreten, die sich bei der kulturellen Differenzierung in eine Reihe aerober und anaerober Arten aufspalten lassen. Besonders die letzteren sind aus jeder Probe zu züchten und gehören in den Formenkreis *Clostridium lento putrescens*, HERTSALL et RETTGER nach BERGEY, *Bacillus putrificus (coli)* nach der üblichen deutschen Nomenklatur. Weiterhin lassen sich häufig Bakterien aus dem Formenkreis des *Clostridium perfringens*, des *Clostridium bifermentans* und *Clostridium amylobacter* beobachten. Da es sich bei diesen Bakterien um weitverbreitete Umweltbakterien handelt, darf angenommen werden, daß die widerstandsfähigen Bakteriensporen mit dem Futter aufgenommen werden und so nur als Verunreinigung der Darmflora anzusprechen sind.

Bei einem Großteil aller Meerschweinchen kommen mehr oder weniger reichlich etwa 4—5 μ dicke bis zu 100 μ lange Fäden vor. Es zeigt sich eine deutliche Querstreifung durch linsenförmige Einzelzellen, von denen jede ein Chromatinkörperchen enthält. Häufig sind in den Fäden auch Sporen eingelagert. Die Enden können scharf abgebrochen sein, aber auch mit einer geringen Verjüngung rund enden. Im hängenden Tropfen erweisen sich die Fäden als lebhaft beweglich. Es handelt sich um *Oscillospira guilliermondii* CHATTON et PERARD. Aber allein der Umstand, daß man Meerschweinchen findet, die diesen Organismus nicht beherbergen, beweist, daß es sich nicht um einen obligaten Keim handelt. Meist ist aber eine ganze Zucht davon infiziert. Eine pathogene Bedeutung scheint diesem Keim aber nicht zuzukommen, da sich irgendwelche Unterschiede zwischen behafteten und freien Tieren nicht feststellen lassen.

Im mikroskopischen Bild kaum auffallend, bei entsprechend langer Züchtung jedoch ohne Schwierigkeit nachweisbar, sind verschiedene Arten von Actinomyceten, deren Anwesenheit im Futter eigentlich selbstverständlich ist; wird doch von ihnen der Großteil der Bodenflora gebildet. Auf ihre Anwesenheit ist ja überhaupt der Erdgeruch zurückzuführen.

Es muß auffallen, daß dieses wiedergegebene Bild mit den Angaben, die wir über die Darmflora in der Literatur finden, erstaunlich geringe Übereinstimmung zeigt. Dieser Umstand klärt sich jedoch sofort, wenn man beachtet, daß es sich z. B. bei den schon angeführten RUSCHMANNschen Angaben nur um reine Plattenbefunde handelt. Wohl jeder, der einmal Blinddarminhalt von Meerschweinchen ausgestrichen hat, war über das daraus resultierende äußerst spärliche Wachstum erstaunt. Das, was mit den üblichen bakteriologischen Methoden zum Anwachsen kommt, sind tatsächlich nur Zufallskeime, die mit der echten symbiontischen Darmflora des Meerschweinchens nichts zu tun haben. Da in der RUSCHMANNschen Arbeit nirgends etwas von einem mikroskopischen Bild erwähnt wird, darf angenommen werden, daß von dieser Unterlassung her der Irrtum entstand, daß eine grampositive Darmflora vorliegt. Daß nun zu allem Überfluß auch noch die Flora eine Empfindlichkeit zeigt, die der einer grampositiven gleicht, leistete diesem Irrtum Vorschub.

Kurzhohrmaus (Pitymys subterraneus). Die Kurzhohrmaus gleicht in ihrer Blinddarmflora sehr stark der des Meerschweinchens. Ja, die Flora ist hier sogar noch etwas charakteristischer, insofern als hier der Sichelkeim das Bild noch stärker beherrscht. Es handelt sich morphologisch um die gleiche Art mit der charakteristischen starken Biegung, dem chromatophilen Körnchen in der Mitte und den zugespitzten Enden. In diesem Fall macht dieser Keim etwa 60 % der Gesamtfloa aus. Daneben findet sich das feine gramnegative Stäbchen, das hier ebenfalls sehr zart gebildet ist und etwa 30 % der Bakterienpopulation bildet, während die Spirochäten fehlen. Die grampositive Flora tritt mit wenigen Sporenbildnern und Angehörigen der Entero- und Mikrokokkengruppe demgegenüber sehr zurück.

Feldmaus (Microtus arvalis). Die Flora der Feldmaus ist ebenfalls fast rein gramnegativer Natur. Die Hauptmasse der gramnegativen Keime wird von dem hier allerdings wesentlich längeren und gröberen Stäbchen aus der Gattung *Cytophaga* gebildet also dem Bacterium, das sich beim Meerschweinchen als zellulosespaltend herausstellte. Dieser Keim bildet etwa 70 % der Gesamtfloa. Daneben spielt der Sichelkeim nur eine untergeordnete Rolle. Seine Gestalt ist hier sehr schlank und an den Enden stark zugespitzt. Auch hier enthält er meist ein chromatophiles Körnchen. Er bildet hier nur etwa 20 % der Gesamtfloa. Der

Rest wird gebildet einmal aus einer Art der beim Meerschweinchen schon beschriebenen Lactobazillen, die aber nur spärlich vertreten sind, aus Enterokokken, die aber nur hier und da eine kleine Gruppe bilden, und endlich aus Sporenbildnern, meist *Bacillus subtilis*. Daneben findet sich fast ebenso häufig ein Sporenbildner mit langen ovalen Sporen und fast stets gramnegativen und nur selten leicht gramlabilen Körpern. Spirochäten sind hier ebenso wie bei der vorhergehenden Art nicht vorhanden.

Wühlmaus (Arvicola terrestris). Die Blinddarmflora der Wühlmaus hat die ausgeprägteste Form aller von mir untersuchten Nagetierarten. Hier beherrscht der Keim der *Cellfalcicula*-Gruppe das mikroskopische Bild mit 70% so vollkommen, daß man die ohnedies viel kleineren übrigen Bakterien dazwischen kaum noch wahrnimmt. Es handelt sich hier um eine Art, die besonders groß und gerade mit wetzsteinartigen Formen vorkommt; nur ganz selten einmal sind Übergänge zu den sichelartigen Formen feststellbar, die aber mit ihrem, wenn auch seltenem Vorkommen die Zugehörigkeit zur *Cellfalcicula*-Gruppe beweisen. Besonders deutlich ist hier auch die Gramlabilität des Keimes ausgeprägt. Daneben sind am häufigsten noch mit 20% die feinen gramnegativen Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe vertreten, die auch bei den anderen Arten bereits beschrieben wurden. Von der grampositiven Flora ist an erster Stelle zu nennen ein hier relativ feinfädiges Bakterium der Familie Lactobacteriaceae, das zu etwa 5% vorkommt. Die restlichen 5% verteilen sich auf mehr als Zufallskeime anzusprechende Bakterienarten, wie Sporenbildner, die bereits beim Meerschweinchen beschriebene, sehr grobkörnige Form der Sarcine und Enterokokken. Auffallend ist auch hier das völlige Fehlen von Spirochäten. Das Bild des Ausstriches wird von der Bakterienpopulation derart stark beherrscht, daß daneben keine Nahrungsbestandteile mehr im mikroskopischen Bild sichtbar sind; diese Tatsache ist bei der Wühlmaus besonders stark ausgeprägt.

Rötelmaus (Clethrionomys glareolus). Die Flora der Rötelmaus ist der der Feldmaus sehr ähnlich. Auch hier herrscht eine fast völlig gramnegative Flora vor. Von grampositiven Bakterien kommt das *Lactobacterium* zu etwa 15% vor. Enterokokken und Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe sind nur spärlich vertreten; der gramlabile Sporenbildner mit langen ovalen Sporen und nur geringer Auftreibung des Bazillenleibes bildet etwa 5% der Flora. Die Spirochäten, die in diesem Falle um ein geringes gröber sind als beim Meerschweinchen, bilden hier etwa 20% der Bakterienpopulation. Sie sind nur schwach gewunden und besitzen 6—10fache Windungen. Die Enden sind äußerst spitz ausgezogen. Die ganze Spirochäte macht einen wesentlich starrerem Eindruck als die Meerschweinchenart. Das gramnegative Stäbchen ist hier auch etwas länger und gröber als beim Meerschweinchen. Eine *Cellfalcicula*-Art ist hier ebenfalls vertreten, die wesentlich mehr als bei den

vorher beschriebenen Arten der des Meerschweinchens gleicht. Ausgesprochen sichelförmige Keime sind spärlich, meist sind es nur relativ kurze, mehr wetzsteinartige Formen, von denen aber sämtliche Übergänge zu den spärlich vorhandenen Sichelkeimen vorkommen. Die Wetzsteinformen sind nur 2—3mal so lang wie dick, bei ihnen liegen die kaum sichtbaren Chromatinkörnchen nicht so zentral, wie man das bei den sichelartigen Formen zu sehen gewohnt ist.

Goldhamster (Mesocricetus auratus auratus). Die Darmflora des Goldhamsters ist zu etwa gleichen Teilen aus grampositiven und gramnegativen Elementen gemischt. Das grampositive Bild wird beherrscht von einem Bakterium der Lactobazillengruppe, das wohl am ehesten mit *Lactobacterium plantarum* übereinstimmen dürfte. Daneben spielen die übrigen grampositiven Bakterien der Enterokokkengruppe und der grampositiven Erd- und Heubazillen eine relativ untergeordnete Rolle. Die gramnegative Flora wird mengenmäßig beherrscht von den celluloseangreifenden Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe, sowie den Spirochäten, die morphologisch denen ähnlich sind, die beim Meerschweinchen beobachtet werden konnten. Der Sichelkeim ist nur in verhältnismäßig geringer Zahl vertreten und, wie es scheint, auch in einer anderen Art als beim Meerschweinchen, da er wesentlich schlanker ist und seine Enden spitzer auslaufen. Von diesen Keimen sind häufiger Teilungsformen zu beobachten, die in diesem Zustand etwa ein Bild bieten, wie es die Algengattung *Closterium* aus der Familie Desmidiaceen zeigt. Während also dieser Keim sich von dem des Meerschweinchens deutlich unterscheidet, sind die beiden anderen gramnegativen Keime von denen des Meerschweinchens überhaupt nicht zu trennen. Nur ganz spärlich kommen neben den sehr feinen Spirochäten, die in größerer Anzahl vorliegen, auch gröbere Formen mit ebenfalls nur drei bis vier Windungen vor.

Waldmaus (Apodemus sylvaticus). Ein völlig anderes Bild bietet die Blinddarmflora der Waldmaus. Es fällt zuerst die Vielgestaltigkeit der vertretenen Bakterien auf, die wesentlich uneinheitlicher gestaltet ist als bei den vorhergehenden Spezies. In der grampositiven Flora sind keine allzu großen Unterschiede festzustellen, vielleicht nur mit der Ausnahme, daß Lactobazillen nur sehr spärlich vertreten sind. Die Enterokokken und die grampositiven Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe, voran *Bacillus subtilis*, sowie die *Clostridium*-Arten, machen nur etwa 10% der Gesamtfloora aus.

Aus der gramnegativen Flora fallen hier erstmals kurze Stäbchen auf, die nach ihrer Form als zur Coligruppe gehörig anzusprechen sind. Die Kultur ergibt auch reichliches Wachstum von lactosepositiven, aber auch von lactosenegativen Colikolonien. Im mikroskopischen Bild stellen sie etwa 30% der Population.

An weiteren Keimen sind noch Spirochäten aufzuführen, deren Anteil an der Gesamtflora allerdings nur 10% beträgt. Aus der gramnegativen Flora machen die bei den übrigen Arten von Nagetieren schon wiederholt beschriebenen Stäbchen der *Cytophaga rodentium* auch hier noch den Hauptbestandteil aus, wenn sie auch nicht das Bild so beherrschen wie bei den vorhergehenden Floren.

Völlig fehlt hier jede Art von Sichelkeimen. Darüber hinaus ist als auffälliger Unterschied festzustellen, daß die Bakterien gegenüber den ungeformten Bestandteilen der Nahrung wesentlich zurücktreten. Bei den vorausgehend beschriebenen Arten beherrschten die Bakterien so das Gesichtsfeld, daß von der eigentlichen Nahrungssubstanz kaum mehr etwas auffiel. Hier hingegen ist genau das Umgekehrte der Fall.

Hausmaus (Mus musculus). Die Flora des Blinddarms der weißen Laboratoriumsmaus besteht zu etwa 60% aus gramnegativen Stäbchen, von denen wiederum über die Hälfte gramnegative Kurzstäbchen darstellen. Kulturell erweisen sich dieselben als Colibakterien. Daneben kommen spärlich Fusobakterien vor, und neben *Cytophaga rodentium* ein weiterer Teil von gramnegativen Stäbchen, die sich nicht einordnen lassen. Die grampositive Flora zeigt wiederum Sporenbildner der Erd- und Heubazillengruppe und auch Clostridien, die zusammen etwa 10% der Flora ausmachen. Aus der Familie der Lactobacteriaceae findet sich ein Stäbchen, das denen der übrigen beschriebenen Nagetierarten gleicht. Das Bild wird vervollständigt durch Enterokokken, spärlich Staphylokokken und Hefezellen.

Die Flora der wilden Hausmaus gleicht völlig der ihrer domestizierten Albinform. Ich möchte deshalb auf die nochmalige Beschreibung verzichten.

Ratte (Rattus norvegicus). Bei der Wanderratte ist schon makroskopisch der kleine Blinddarm auffallend. Die Flora vollends zeigt ähnlich wie bei der Waldmaus ein sehr buntes und uneinheitliches Bild. Keiner der Keime herrscht vor. Aus der gramnegativen Flora ragen zahlenmäßig die bei allen anderen schon beschriebenen feinen Stäbchen der Gattung *Cytophaga* hervor; sie bilden etwa 30% der Gesamtflora. Mit der gleichen Häufigkeit vertreten sind Kurzstäbchen, die kulturell als *Bacterium coli* differenzierbar sind. Sehr vereinzelt kommen gramnegative Kokken der Gattung *Neisseria* vor. Aus der grampositiven Flora fallen die plumpen Stäbchen der Erd- und Heubazillengruppe auf, die jedoch nur 5% ausmachen, weiterhin Clostridien mit etwa gleicher Häufigkeit. Stäbchen der Familie Lactobacteriaceae sind mit etwa 10% vertreten, der Rest verteilt sich auf Kokken, unter denen besonders die Enterokokken stark vorherrschen. Die vielgestaltige Flora tritt aber neben den Nahrungsstoffen völlig zurück, und man muß im Präparat,

ganz anders als etwa bei der Mikrotinenflora, zwischen den Detritusmassen die Bakterien regelrecht aufsuchen.

Ordnung Hasenartige (*Lagomorpha*)

Feldhase (*Lepus europaeus europaeus*). Demgegenüber bieten die Hasenartigen ein völlig anderes Bild. Als erster Vertreter sei hier das Bild beim Feldhasen geschildert. Es wird beherrscht von einer grampositiven Flora, die als auffallendsten Vertreter viele plumpe Stäbchen der Sporenbildner-Gruppe aufweist. Kulturell lassen sich diese vor allem als *Bacillus subtilis* bestimmen, daneben kommen aber auch *Bacillus mesentericus* und *Bacillus mycoides* vor. Von anaeroben Sporenbildnern finden sich tetanomorphe Bazillen, aber auch reichlich *Clostridium perfringens*. Aus der grampositiven Flora begegnet man weiterhin noch relativ häufig einem Keim aus der Gruppe der Lactobazillen. Enterokokken, weiße Staphylokokken und Sarcinen sind demgegenüber spärlicher vertreten. An gramnegativen Keimen ist zahlenmäßig sehr häufig *Cytophaga rodentium* vertreten, das bei Meerschwein-

Tabelle 1. Flora in Prozenten

Ordnung	Familie	Unterfamilie	Art	<i>Cytophaga</i>	<i>Lactobacterium</i>	Sprochäten	<i>Cetfalcicula</i>	Coli	Sporenbildner und andere
Lagomorpha			<i>Oryctolagus cuniculus</i>	30	25				45
			<i>Lepus europaeus</i>	30	25				45
Rodentia	Muridae	Murinae	<i>Apodemus sylvaticus</i>	40	10	10		30	10
			<i>Rattus rattus</i>	30	10	20		30	10
			<i>Mus musculus</i>	40	20	10		20	10
			<i>Mesocricetus auratus</i>	20	40	20	10		10
		Crice- tinae	<i>Clethrionomys glareolus</i>	40	15	20	20		5
			<i>Microtus arvalis</i>	70	5		20		5
			<i>Arvicola terrestris</i>	20	5		70		5
		Micro- tinae	<i>Pitymys subterraneus</i>	30	5		60		5
			<i>Cavia porcellus</i>	30	5	30	30		5

chen und auch allen anderen aufgeführten Arten bereits beschrieben wurde. Daneben finden sich noch gramlabile kleinste Bakterien von Form und Lagerung der *Haemophilus*-Arten.

Kaninchen (Oryctolagus cuniculus cuniculus). Vom Kaninchen standen nur domestizierte Vertreter zur Verfügung. Die Blinddarmflora gleicht hier praktisch der des Feldhasen, vielleicht nur mit dem einen Unterschied, daß die plumpen Stäbchen der Sporenbildner nicht ganz so stark das Feld beherrschen wie bei diesem. Ganz vereinzelt sind hier nur zusätzlich Sproßpilzzellen zu beobachten, die aber gut futterbedingt sein können.

Am auffälligsten gegenüber den anderen beschriebenen Arten ist bei diesen beiden Spezies das völlige Fehlen sowohl des Sichelkeimes als auch der doch sonst so häufig vorhandenen Spirochäten.

Eine vergleichende Übersicht der Blinddarmflora der untersuchten Arten gibt Tabelle 1.

Untersuchungen in Kulturen

Zur Erfassung der Blinddarmflora des Meerschweinchens in Kulturen wurde zunächst mit den in der allgemeinen Diagnostik üblichen Nährböden begonnen. Es ergab sich dabei nur relativ sehr geringes Wachstum, und zwar konnten bei den Ausstrichen auf Nähragar üblicher Zusammensetzung beobachtet werden: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus citreus*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus mycoides*. Alle diese Keime konnten jeweils nur von Fall zu Fall in Einzelkolonien beobachtet werden, so daß sie als zufällige Verunreinigungen der Darmflora anzusprechen sind. Im anaeroben Verfahren mittels Anreicherung in Tarozzi-Bouillon und nachfolgendem Ausstrich auf Zeissler-Platten konnten nachgewiesen werden *Clostridium perfringens*, *Clostridium putrificum tenue*, *Clostridium amylobacter* und *Clostridium lento putrescens*, *Clostridium tetanomorphum*. Auch bei diesen anaeroben Keimen ist der Nachweis im Blinddarminhalt nicht regelmäßig zu führen, sondern gelingt nur von Fall zu Fall.

Plattenversuche

Da dieses erzielte Wachstum mit der aus dem mikroskopischen Präparat bekannten Zusammensetzung keine Übereinstimmung zeigte, wurde zu hochwertigeren Nährböden übergegangen. Es wurden verwendet: 1. Agarnährboden mit 10% Hammelblutzusatz (die übliche „Blutplatte“). 2. Agarnährboden mit Zusatz von 2% Glukose. 3. Agarnährboden mit Zusatz von 10% Serum. 4. Agarnährboden mit Zusatz von 20% Ascites. 5. Elektivzüchtungsnährböden nach ENDO, 6. nach CLAUBERG, 7. nach CHAPMAN-STONE, 8. Harnstoffagar nach CHRISTENSEN, 9. Glycerin-Kartoffel-Blutagar nach BORDET und GENGOU, 10. Blutalkaliagar nach DIEUDONNÉ, 11. Desoxycholat nach MOSER, 12. Desoxycholat Citrat-Agar nach LEIFSON, 13. Lackmus-Lactoseagar nach DRIGALSKY, 14. Wismut-Sulfit-Nährboden nach

WILSON-BLAIR, 15. Eisenagar nach KLIGLER, 16. Ammonagar nach HOHN, 17. Pferdeblutdextroseagar nach NOELLER, 18. Galle-Blutagar, 19. Cystin-Milchzucker-Leberagar nach BLAUROCK, 20. Eisenchlorid-Sulfit-Gelatine nach THEMANN, 21. Harnstoff-Dextrose-Agar nach PREUSS, 22. Eiernährboden 1 nach HOHN, 23. Eiernährboden 4 nach HOHN, 24. Eiernährboden nach LÖWENSTEIN, 25. Eiernährboden nach PETRAGNANI, 26. Gelatineagar nach CLARK, 27. Blut-Dextrose-Cystinagar nach FRANCIS, 28. Blutwasseragar nach CASPER u. BIELING, 29. Lackmus-Zucker-Ascites-Agar nach LINGELSHEIM mit Saccharose, 30. mit Laevulose, 31. Maltose, 32. Mannit, 33. Lactose, 34. Kochblutagar nach LEVINthal, 35. Blutröstplatte nach WETHMAR, 36. Glycerinagar mit 2% G, 37. Schokoladenagar nach MÜHLENS, 38. Dextrose-Blutagar nach ZEISSLER, 39. N-N-N-Agar nach NOVY, MACNEAL u. NICOLLE, 40. Pilonagar, 41. Brom-Thymolblau-Metachromgelb-Molkeagar nach WINKLE, 42. Tomatensaftagar, 43. Würzeagar, 44. Leberbouillon-glycerinagar, 45. erstarrte Traubenzuckerserumplatten nach LÖFFLER, 46. erstarrtes Glycerinserum, 47. Gelatineplatten, 48. Grützagar, 49. Maltoseagar nach SABOURAUD. Die Nährböden wurden jeweils aerob und anaerob nach der FORTNERSCHEN Methode angesetzt. Dabei ergab sich gegenüber dem einfachen Nähragar im allgemeinen kein zusätzliches Wachstum mit Ausnahme des Wachstums von Bakterien der Familie Lactobacteriaceae, die besonders auf dem Cystin-Milchzucker-Leberagar nach BLAUROCK, aber auch auf Blutwasseragar und Ascitesagar im anaeroben Verfahren zum Wachstum kamen. Die im Originalpräparat nachweisbaren gramnegativen Keime kamen aber auch auf all den angeführten Platten nicht zum Wachstum.

Züchtungsversuche in flüssigen Nährmedien

Es wurde deshalb in einer anderen Versuchsserie zuerst einmal die Züchtung in flüssigen Nährböden versucht. Die Untersuchung erfolgte jeweils im Reagenzglas in normaler Füllhöhe von etwa 10 cm³ unter den dabei herrschenden halb anaeroben Verhältnissen und unter Überschichtung mit Paraffinum liquidum zur Erzielung von völlig anaeroben Verhältnissen. An Zusätzen zu üblicher Bouillon wurden verwendet: Kohlenhydrate wie Dextrose, Lactose, Maltose, Laevulose, Saccharose, Raffinose, Arabinose, Xylose, Rhamnose; weiterhin Salicin, Adonit, Dulcitol, Mannit, Sorbit, Inosit, Natriumcitrat, Kalium-d-Tartrat, Natriummucic, Harnstoff, Harnsäure; Aminosäuren wie Asparagin, Cystin, Prolin, Leucin usw.; Reinvitamine und Vitaminkombinationen wie Ascorbinsäure, Aneurin, Biotin, Nikotinsäureamid, Hefautolysat, Polyvitaminkonzentrat Dr. GRANDEL, Leberextrakt; Natriumthioglykolat, Hirnbrei, Lebermilch usw. Bei all diesen flüssigen Nährböden kam es stets zu starker Überwucherung, im einen Fall durch die Enterokokken, im anderen unter stark anaeroben Verhältnissen meist durch die vorhandenen Clostridien. Eine Vermehrung der als Symbionten anzusehenden Bakterien ließ sich auf diesem Wege jedenfalls nicht erzielen. Nur die grampositiven Lactobazillen kamen zu einer stärkeren Vermehrung und ließen sich auf diese Weise bei Sekundärkulturen isolieren.

Um die natürlichen Verhältnisse möglichst nachzuahmen, wurde der Versuch unternommen, die Züchtung im Dünndarminhalt frisch getöteter Meerschweinchen zu versuchen. Jedoch auch hier erfolgte eine Überwucherung durch andere Keime. Weiterhin wurde der Blinddarminhalt in Kochsalz aufgeschwemmt, abzentrifugiert und als Nährboden, bzw. auch als Zusatz zu verschiedenen Kombinationen verwendet, die den physiologischen Verhältnissen als möglichst angepaßt erscheinen mußten, jedoch auch diese Versuche verliefen mehr oder minder negativ, insofern als eine wirkliche Züchtung der in Frage stehenden Keime nicht gelang.

Es wurde nunmehr von dem Gedanken ausgegangen, die unerwünschten Begleitkeime durch entsprechende Zusätze von Antibiotica zu schädigen und so die überwuchernden Konkurrenten des vielleicht gegen ein Medikament nicht so empfindlichen Sichelkeimes niederzuhalten. Von den gleichzeitig laufenden Tierversuchen her, war Neomycin noch als das günstigste erschienen. Jedoch auch hiermit ließ sich eine Reinzüchtung, insbesondere des Sichelkeimes nicht erzielen. Es wurden auch die schon durch die Antibiotikagaben an die Tiere von Begleitkeimen relativ gereinigten Blinddarminhalt als Ausgangspunkt für die Züchtung verwendet, dabei aber kam es ebenfalls nicht zu einer merklichen stärkeren Vermehrung der Sichelkeime. Man konnte allenfalls von einer Verlängerung der Lebensdauer der in den Nährboden eingeimpften Bakterien sprechen. Die einzige Methode, die von einer tatsächlichen echten Züchtung hätte sprechen lassen können, die der fortgesetzten Subkultur im gleichen Milieu, gelang jedenfalls nicht.

In einer weiteren Untersuchungsreihe wurden die obigen Versuche kombiniert unter Zusatz von Zellulose in Form eines reinen Zellulosepulvers von Schleicher & Schüll. Dabei wiederum waren es vorzugsweise die Sporenbildner, die mit ihrer starken Wachstumstendenz die übrigen Keime überwucherten.

Von dem Gedanken ausgehend, es müsse verhütet werden, daß die Saprophyten durch die allzu reichlich angebotenen Nährstoffe in ihrer Entwicklung so begünstigt würden, daß sie die vielleicht mit wesentlich geringeren Nährbodenansprüchen zufriedenen Symbionten stets überwuchern, wurden in einer anderen Versuchsserie als Nährbodengrundlage verschiedene Primitivgrundlagen verwendet. Es kam ein Salzmedium zur Anwendung, das sich in anderen Untersuchungen zur Physiologie des Aminosäurestoffwechsels von *Bacterium coli* bewährt hatte, nämlich einer Lösung von K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4$, Na-Citrat, $(NH_4)_2SO_4$.

Damit wurden praktisch sämtliche Versuche mit den Substanzen, die oben bereits als Zusatz zur Bouillon aufgeführt wurden, aerob und anaerob, mit und ohne Zellulose, mit und ohne Antibiotika wiederholt. Ohne Erfolg.

Da der Weg der Vollbeimpfung mit dem Gemisch an Bakterien, wie es im Blinddarm vorliegt, sich als nicht gangbar gezeigt hatte, sah ich keinen anderen Weg, als zu versuchen, durch Einkeimbeimpfung zu primären Reinkulturen zu gelangen. Es wurde deshalb Blinddarminhalt derart stark verdünnt, daß nach der Wahrscheinlichkeit in jedem zweiten Tropfen nur noch ein Bakterium zu vermuten war und mit einer derartigen Aufschwemmung wurden jeweils 100 Nährböden der gleichen Art mit einem Tropfen beimpft. Aus gebotener Sparsamkeit konnten diese Versuche nicht mit sämtlichen bereits vorher einmal beschriebenen Nährböden durchgeführt werden. Es wurden deshalb nur verwendet: gewöhnliche Bouillon, Leberbouillon und der synthetische Nährboden. Diese drei Nährböden wurden jeweils mit und ohne Zellulose und diese beiden Variationen wieder aerob und anaerob angelegt. Schließlich wurde dieser ganze Versuch auch noch ohne und mit Zusatz von Hefeautolysat zur Vitaminanreicherung durchgeführt. Auch so summierten sich die verwendeten Röhren auf 2400.

Durch diese Methode wurden nun tatsächlich in einzelnen Röhren Reinkulturen erzielt, während etwa die Hälfte bis $\frac{1}{3}$ aller Röhren überhaupt kein Wachstum zeigten. Unter den angegangenen Röhren befanden sich auch solche, die Wachstum von feinen gramnegativen Stäbchen zeigten, die besonders in dem synthetischen Nährboden unter Zellulosezusatz sowohl „aerob“ als auch anaerob (d. h. ohne und mit Paraffinüberschichtung) auf den Zellulosefasern zur Entwicklung kamen. Eine etwa zu erwartende Trübung des über dem Zellulosesatz stehenden

klaren Nährbodens war nicht zu erzielen, vielmehr konnten die Bakterien stets nur im mikroskopischen Präparat als einzelne Zelluloseteilchen bevölkernde Keime beobachtet werden. Nach diesem Vorkommen auf den Zelluloseteilchen mußte angenommen werden, daß sie diese als Nährsubstrat verwenden. Diese Vermutung wird bestärkt durch die Tatsache, daß ein Überimpfen der bewachsenen Zelluloseteilchen auf andere zellulosefreie Nährböden zu keinem weiteren Wachstum führt. Andererseits konnte aber ein merkliches Abnehmen der Zellulose auch bei wochenlanger Bebrütung nicht beobachtet werden, so daß von dieser Seite her die Destruktion der Zellulose durch die Bakterien nicht zu beweisen ist. Des geringen Wachstums wegen konnten auch weitere physiologische Eigentümlichkeiten des Bakteriums nicht nachgewiesen werden, so daß sogar die Einordnung in das System trotz gelungener Züchtung nicht mit letzter Sicherheit möglich ist. Immerhin ist nach den wenigen bekannten Eigenschaften noch am wahrscheinlichsten eine Einordnung in die Familie der Cytophagaceae aus der Ordnung Myxobacteriales, wie bereits oben bemerkt. Bei den aus dieser Familie beschriebenen Keimen handelt es sich um Bewohner des Bodens, denen sämtlich die Fähigkeit der Zelluloseverwertung zugeschrieben wird. Mit einer der beschriebenen Arten ist der Organismus nicht zu identifizieren, da für die bekannten Arten von *Cytophaga* als Bodenbewohner eine Optimaltemperatur weit unter der des Blinddarms angegeben wird. Zum anderen ist überhaupt keine Art als bei einem Lebewesen vorkommend beschrieben. Es muß aber doch wohl angenommen werden, daß die ursprünglich terrestrischen Bewohner die Arten sind, aus denen sich die jetzt symbiontischen Spezies entwickelten. Bei der Züchtung in der zellulosehaltigen synthetischen Nährbrühe verfärbt sich die Zellulose etwas grau. Auch bei den terrestrischen Arten wird Pigmentbildung beschrieben, wobei die verschiedensten Farben entwickelt werden. In der Flexibilität, in dem Fehlen von Geißeln, in der eigentümlichen kriechenden Bewegungsweise stimmt der aus dem Meerschweinchen in der Kultur beobachtete Mikroorganismus mit der von WINOGRADSKY gelieferten Beschreibung seiner *Cytophaga*-Spezies aus Bodenkultur gut überein. Besonders die Bewegungsart erscheint mir so charakteristisch, daß sie die Zugehörigkeit zum Genus *Cytophaga* sehr wahrscheinlich macht. Seinem Vorkommen bei den Nagetieren gemäß möchte ich für den Keim den Namen *Cytophaga rodentium* n. sp. vorschlagen.

Da die Züchtung der beiden anderen, noch häufig vorhandenen Bakterienarten, der *Cellfalcicula* und der Spirochäte noch nicht gelungen war, wurde versucht, von möglichst natürlichen Substraten ausgehend, zuerst einmal *Cellfalcicula* die entsprechende Nährbodengrundlage zu bieten. Zu diesem Zweck wurden zuerst Abkochungen, später auch steril filtrierte Preßsäfte verwendet, zu deren Bereitung Gras, Futter-

rüben, Karotten, Salat, Spinat, Blumenkohlstrünke benutzt wurden. Die Preßsäfte wurden für sich allein aerob und anaerob, d. h. in dünner Schicht und bei Überschichtung mit sterilem Paraffinöl, und ebenso auch mit Zusatz von sterilem Zellulosepulver verwendet. Auch in diesen Substraten war kein Wachstum von *Cellfalcicula* zu erzielen. Die terrestrischen Arten dieses Bakteriums wurden von WINOGRADSKY mit der Kieselsäureregelmethode gezüchtet. Deshalb wurden in einer anderen Versuchsserie zuerst die von diesem Autor beschriebenen Originalnährböden verwendet, des Mißerfolges wegen aber auch noch weitere Abänderungen vorgenommen. WINOGRADSKY verwendete einmal Kieselsäuregelplatten, die durch Zugabe von HCl zu Wasserglas unter Zugabe von Zellulosepulver gewonnen werden, andererseits aber auch reine Kieselsäuregelplatten auf die Filtrierpapierscheiben aufgelegt wurden. Ich habe ebenfalls beide Methoden angewendet. Als Zellulosepulver benutzte ich die reine Zellulosesubstanz 123 von Schleicher & Schüll, aber auch die Hydrozellulose, die durch Behandlung von reiner Sulfatzellulose mit Säure und darauffolgendem Zerreiben gewonnen worden war. Der Grundnährboden wurde auch weiterhin durch Zusatz von Phosphorsäure zur Wasserglaslösung gewonnen. Um weitere wachstumsfördernde Prinzipien einzuführen, wurden dem Silikatgrundnährboden abwechselnd allein und in Kombination Pepton, Hefeautolysat, Glukose, Dünndarminhalt von Meerschweinchen, Extrakte aus dem Inhalt des Blinddarms, Extrakte des Darmes selbst zugesetzt. Auch diese Versuche verliefen negativ.

Züchtungsversuche in halbstarren Nährmedien

Zu Reinzüchtungsversuchen der Spirochäten sollte eine andere Reihe von Züchtungsbedingungen dienen. Ich wollte in diesen Versuchen von der starken Beweglichkeit dieser Mikroorganismen auch in halbstarren Medien ausgehen; dieses wurde deshalb in U-Röhrchen gegeben, die Beimpfung im einen Schenkel vorgenommen und erwartet, daß die Spirochäten dank ihrer großen Beweglichkeit in den anderen Schenkel durchwandern würden und sich dort isolieren ließen. An halbstarren Medien wurden verwendet: Erstarres Glyzerinserum, Pferdeserum halberstarrt nach NOGUCHI; natürliche Bouillon und synthetischer Nährboden mit den bereits genannten Zusätzen wurden durch zusätzliche Beigabe von Methylzellulose in einen halbstarren Zustand überführt. Es zeigte sich, daß die immer vorhandenen Sporenbildner in ihrer Beweglichkeit den Nährboden am raschesten durchwandern und so das mögliche Wachstum von anderen Keimen durch frühzeitige Veränderung des Nährbodens verhindern. Auch mit dieser Methode ließ sich nicht der gewünschte Erfolg erzielen.

Tierversuche

Interessante und aufschlußreiche Perspektiven ergeben sich auch aus der Gewohnheit aller daraufhin untersuchten Nagetiere mit Ausnahme der Schläfer den Weichkot zu fressen. HARDER (1949) beschrieb diese

Erscheinung der Tiere und setzt sie in Beziehung insbesondere zu der Kostform der Tiere. Er nennt den Weichkot Coecotrophe, um damit seine Herkunft aus dem Blinddarm zu kennzeichnen. Er beobachtete das Eingehen der Tiere, wenn man sie am Fressen des Weichkotes hindert. Dies schien mir der Ansatzpunkt für weitere aufschlußreiche Versuche zu sein. SCHEUNERT und ZIMMERMANN untersuchten die Coecotrophe auf ihren Vitamingehalt. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß beim Meerschweinchen z. B. der Weichkot das doppelte an Nikotinsäure enthält wie der Normalkot, an Vitamin B sogar das 3,7fache. Man konnte also vermuten, daß dieser erhöhte Vitamingehalt mit der Eigentümlichkeit des Kotfressens in Beziehung stehen könne. Diese Vermutung wird noch weiterhin bestärkt, wenn man sich den Vitamingehalt der Winternahrung vergegenwärtigt, bei der die Tiere besonders leicht sterben, wenn man sie am Kotfressen hindert, was durch Anlegen eines Halskragens erreicht wird.

Hinderung der Coecotrophie

Zu diesen Untersuchungen setzte ich die Tiere auf Gitterdraht von 10 mm Maschenweite, durch den der Weichkot bei den im Versuch stehenden 500 g Tieren noch gut durchfällt¹. Die Tiere im Kontrollversuch zeigen bei diesen Haltebedingungen durchaus gesundes Aussehen, auch bei reiner Heufütterung unter Zugabe von Wasser und nehmen langsam an Gewicht zu. Auch die Kontrolltiere, deren Kragen so schmal gemacht wird, daß sie den austretenden Weichkot noch zu erreichen vermögen, zeigen gegenüber den Tieren ohne Kragen keinerlei Unterschied. Wird jedoch der Kragen so breit gemacht, daß es dem Tier nicht mehr möglich ist, den Weichkot zu erreichen, dann gehen diese bereits nach 4 Tagen unter dieser extrem einseitigen Kostform ein. Interessant ist dabei besonders, daß das Verenden der Tiere ganz plötzlich und unter nur kurzen Prodromalerscheinungen aus anscheinend völligem Wohlbefinden erfolgt. Die auffallendsten Erscheinungen des Prodromalstadiums sind an den Hinterbeinen beginnende Lähmungserscheinungen und eine Freßunlust, die allerdings auch stark auf die nervösen Muskelstörungen zurückzuführen sein wird. Die Erscheinungen steigern sich bis zum Opisthotonus, in dem dann das Tier verendet. Diese Krankheitszeichen haben große Ähnlichkeit mit den Avitaminoseschäden, die bei B₁-Mangel zu beobachten sind. Das würde auch mit den Angaben übereinstimmen, die SCHEUNERT und ZIMMERMANN über den Vitamingehalt der Coecotrophe machen.

¹ Alle im folgenden genannten Tierversuche wurden mit Gruppen von 4 Tieren durchgeführt.

Vitaminzusatzversuche

Um nun die angegebene Bedeutung des hohen Vitamin-B₁-Gehaltes zu überprüfen, erhielten die am Fressen des Weichkotes absolut gehinderten Kragentiere täglich das überaus hohe Quantum von 10 mg Aneurin, in Zuckerwasser gelöst, mit der Magensonde, was allerdings nach kurzem Gebrauch schon nicht mehr notwendig war, da die Tiere gierig die Aneurinlösung aufnahmen. Man hatte geradezu den Eindruck, daß sie instinktiv nach dem Vitamin verlangten. Gesunde und normal ernährte Tiere zeigen diese Gier nicht und wurden durch den Aneuringeruch auch gar nicht beeindruckt, der auf die mangelernährten Tiere besondere Reize ausübt.

Trotz der überaus hohen Vitaminzufütterung gehen die Tiere nach der gleichen Zeit wie die ohne Vitaminzufuhr ein. Damit ist der Beweis erbracht, daß nicht allein der Vitamin-B₁-Verlust, der durch Nichtfressen der Coecotrophe entsteht, an dem raschen Verenden der Tiere die Schuld trägt.

Das ist auch noch aus einem anderen Grunde unwahrscheinlich. Bei Grasfütterung halten die Tiere mit Kragen 18—21 Tage aus, bevor sie eingehen. Allein durch das Trocknen des Grases muß also eine derartige Entwertung der Nahrung eintreten, daß die starke Verkürzung der Lebensdauer ohne Weichkotfressen dadurch bedingt wird. Vitamin B₁ zeigt aber keine derartige Unbeständigkeit gegenüber Trocknen, daß damit der Unterschied in der Wirksamkeit zwischen Gras und Heu erklärbar wäre. Ebenso stimmt damit auch nicht die Hitzelabilität überein, die HARDER für den verantwortlichen Stoff in der Coecotrophe damit bewies, daß er diese erhitzte und zeigte, daß damit gefütterte Tiere ebenso rasch starben wie solche, denen keine Coecotrophe gereicht wurde. Nach neueren Untersuchungen von P. B. PEARSON und Mitarbeiter kommen darin neben dem hohen Gehalt an Vitamin B₁ jedoch auch erhebliche Mengen an Nikotinsäureamid, Riboflavin, Pantothensäure und Vitamin B₁₂ vor. Von diesen 4 Vitaminsubstanzen ist Pantothensäure als einzige hitzeunstabil. Das legte den Verdacht nahe, daß besonders der Verlust an diesem Vitamin eine entscheidende Rolle bei der Verhinderung des Weichkotfressens spielen könne.

Es wurden deshalb Tiere mit Kragen zu ihrer üblichen Heu- und Wasserfütterung mit einer täglichen Gabe von 1 mg Pantothensäure versorgt, eine andere Gruppe erhielt zusätzlich 10 mg Aneurin neben der Pantothensäuregabe. Die reine Pantothensäuregabe ergab bereits für sich eine Lebensverlängerung auf 8 Tage, bis die Tiere doch starben. Sie magerten dabei stark ab, zeigten aber keine der vorher beschriebenen Prodromalerscheinungen. Sie zeigten vielmehr einen lethargischen Zustand, in dem sie zuletzt auch nicht mehr fraßen. Die Sektion ergab

weder an den Nebennieren noch an Magen und Duodenum Veränderungen, worauf noch später eingegangen werden wird. Bakterioskopisch ergibt sich ein sehr starkes Vorwiegen der Enterokokken, während die Sichelkeime nur noch spärlich vorhanden sind. Auch die Spirochäten sind in ihrer Zahl zurückgegangen. *Cytophaga* und *Lactobacillus* sind im wesentlichen unverändert.

Die zusätzliche Ernährung mit Aneurin neben Pantothensäuregabe ergibt ein wesentlich längeres Überleben als mit den Einzelsubstanzen selbst. Die Lebensdauer mit Kragen betrug 14 Tage. Die Sektion der Tiere zeigte kein anderes Bild als das der mit Pantothensäure ernährten. Es zeigt sich also, daß noch weitere Vitaminzusätze notwendig sind, um den physiologischen Anforderungen zu genügen.

Die Zugabe eines Präparates, das möglichst viele Vitamine enthält, wie es z. B. im Polyvitaminkonzentrat Dr. GRANDEL vorliegt, schafft wesentlich andere Verhältnisse. Die Tiere halten, obwohl sie am Weichkotfressen gehindert werden, 3 Wochen und länger aus, also auch länger als es bei den mit Grünfutter ernährten Tieren möglich ist. Damit ist bewiesen, daß die Krankheitserscheinungen, die auftreten, wenn man die Tiere am Weichkotfressen hindert, einzig Vitaminmangelerscheinungen sind. Sie werden also nicht etwa auch dadurch hervorgerufen, daß die Tiere durch mangelhafte Zelluloseausnützung in einen Zustand des Kalorienmangels versetzt werden. Die Bedeutung des Blinddarms beruht also sicherlich nicht nur darauf, daß er „Ort der Zelluloseverdauung“ (SCHEUNERT und ZIMMERMANN, S. 217) ist.

Proteinhaushalt

Zur Diskussion steht weiterhin die Frage, inwieweit die Coecotrophe mit ihrem angegebenen hohen Proteingehalt zu einem wesentlichen Teil am Aminosäurehaushalt der Nager beteiligt ist. Leider liegen Untersuchungen am Meerschweinchen dazu nicht vor. ROSE und SMITH führten Untersuchungen an Ratten durch. Nun bietet zwar die omnivore Ratte sowohl hinsichtlich ihrer Darmflora als auch der anatomischen Verhältnisse ihres Blinddarms und ebenso der andersartigen Zusammensetzung der üblichen Nahrung durchaus andere Verhältnisse, die sich nicht ohne weiteres auf die Meerschweinchen und ähnliche Nager übertragen lassen. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß den Ratten durch Zugabe eines darmdesinfizierenden, nicht resorbierbaren Sulfonamides die Darmflora vernichtet wurde. Man hätte also bei einer Bedeutung der Flora für die Aminosäuregewinnung erwarten müssen, daß bei geeigneter Fütterung die Tiere gegenüber den Kontrollen in ein Eiweißdefizit geraten. Es zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied. Auch die eigenen Versuche an den Meerschweinchen mit Kragen, die

mit Polyvitaminkonzentrat gefüttert wurden, zeigen, daß die Tiere nicht in ein Proteindefizit kommen, selbst nicht unter den extremsten Fütterungsbedingungen.

Zur Frage des Unterschiedes im Aminosäuregehalt versuchte ich die chromatographische Bestimmung der im Dünndarm-, Blinddarm- und Dickdarminhalt vorliegenden Aminosäuren. Leider wird durch die reichlich vorhandenen Gallenfarbstoffe, die das Chromatogramm völlig verwischen, diese Untersuchung denkbar erschwert. Diese Farbstoffe haben die Eigenschaft, durch ihre hohe Konzentration, in der sie im Darminhalt vorliegen, mit der Front des Lösungsmittels unter äußerst stark ausgeprägter Schwanzbildung zu wandern und so das ganze Chromatogramm derart stark zu verfärben, daß nur sehr reichlich vorhandene Aminosäuren daneben noch erkennbar werden. Deshalb konnten praktisch nur Asparaginsäure, Lysin, Alanin und Leucin als solche identifiziert werden. Signifikante Unterschiede ergaben sich aber auch bei diesen in den drei Darminhaltproben nicht, nur bei dem aus dem Dickdarm waren sie nur noch in geringer Menge nachweisbar und im Enddarm fast völlig verschwunden. Auch im zweidimensionalen Chromatogramm ließen sich die erwähnten Schwierigkeiten nicht überwinden. Versuche durch Elution den Gallenfarbstoff vor dem Chromatographieren zu entfernen und so zu brauchbaren Ergebnissen zu gelangen, schlugen ebenfalls fehl. Zudem wären derartige Versuche auch nur noch bis zu einem gewissen Grade verwendbar, selbst wenn sie gelungen wären, da immer damit gerechnet werden muß, daß auch Aminosäuren in dem Lösungsmittel, das den Gallenfarbstoff ausziehen soll, miteluiert werden. Aus diesem Grunde nahm ich auch Abstand von der Entfärbung des Extraktes durch Tierkohle.

Bildung der Coecotrophe

Die Ausstoßung des Blinddarminhaltes und Umformung zur Coecotrophe im Dickdarm muß offenbar periodisch erfolgen. Wenn HARDER aber in Zusammenhang mit der Bildung der Coecotrophe die Ansicht äußert, daß der Blinddarm sich in gewissen Abständen mehr oder minder vollkommen entleeren müsse, weil nur so die Coecotrophe aus dem Blinddarm ins Colon gelangen könne, so muß ich dies zumindestens für das Meerschweinchen sehr in Frage stellen. Bei 600 während 2½ Jahren beobachteten Tieren konnte ich auch nicht einen wenigstens einigermaßen leeren Blinddarm feststellen und von etwa 5000 vorher untersuchten Versuchstieren ist mir kein Fall dieser Art erinnerlich, obwohl diese bei der stets notwendigen genauen Untersuchung des Situs von TB-Tieren, um die es sich handelte, aufgefallen wäre. Ich habe eher den Eindruck, als ob nur ein kleiner Teil des Inhaltes entleert würde, um dann gleich wieder durch Dünndarminhalt aufgefüllt zu werden.

Das ist mir auch aus verschiedenen anderen Gründen wahrscheinlicher. In Originalpräparaten des Blinddarmausstriches finden sich besonders bei *Cellfalcicula* viel weniger Formen, die auf eine eben stattgehabte oder bevorstehende Teilung schließen lassen als das in Kulturen anderer Bakterien der Fall ist. Ich möchte daher für diese Form eine

relativ geringere Teilungsgeschwindigkeit und daher einen wesentlich langsameren Zuwachs annehmen. Das würde aber bedeuten, daß die Blinddarmflora sich nicht so rasch, zumindestens für diesen Keim, regenerieren kann, wie dies etwa bei der Coliflora des Menschen zu sein scheint.

Es zeigen auch die Versuche beim Streptomycin-sterilisierten Tier, daß die Restitution der symbiontischen Flora wesentlich langsamer erfolgt als sich eingedrungene Colibakterien in dem an und für sich für sie doch fremden Milieu vermehren, da diese Tiere ja nach dem Absetzen der Streptomycingaben an „Colienteritis“ einzugehen pflegen.

Endlich weisen auch noch andere Versuche, von denen HARDER berichtet, in dieselbe Richtung. Danach haben Untersuchungen (EDEN), bei denen dem Futter der Kaninchen Kupfer beigemischt wurde, ergeben, daß bei Gestattung der Coecotrophie dasselbe 5 Wochen im Kot nachweisbar war, da der Kreislauf eben immer wieder von neuem begann. Verhinderte man dagegen die Aufnahme der Coecotrophe, so war das Kupfer 4 Tage im Kot der Tiere zu finden. Das kann aber nur auf das lange Verweilen des Kupfers im Blinddarm zurückgeführt werden, denn die übliche Darmpassage ist nicht höher als mit 12—24 Std anzunehmen. Wenn aber der Blinddarm sich nahezu restlos entleeren würde, müßte es ja auch wesentlich rascher zu einem Wiederverschwinden des Kupfers kommen.

Die Durchmischung des Blinddarminhaltes ist fortwährend sehr kräftig. Jedenfalls lassen sich beim frisch getöteten Tier starke Durchmischungsbewegungen beobachten und auch weder makroskopisch noch mikroskopisch im Darminhalt deutliche Unterschiede zwischen Anfang und Ende des Blinddarms erkennen. Dementsprechend erscheint es mir auch nicht möglich, einen besonderen Teil des Blinddarms für die Bildung der Coecotrophe verantwortlich zu machen. Die Tuscheinspritzungen HARDERS beweisen ja auf jeden Fall nur, daß die Coecotrophe tatsächlich im Blinddarm gebildet wird, woran kein Zweifel ist.

Die Frage, was nun das Tier zur Aufnahme der Coecotrophe bewegt, ist schwer zu klären. Die Meinung, daß es ein besonderer Duftstoff sei (HARDER), der zur Aufnahme anreizt, scheint mir deshalb als nicht beweiskräftig, da ja die Tiere bei reicher Grünfütterung die Coecotrophe unbeachtet liegen lassen. Die Instinkthandlung der Aufnahme der Coecotrophe muß also in diesem Falle geradezu von einem chemischen Sinn für das Vorhandensein der notwendigen Vitaminergänzung bei Mangelfütterung durch den Gehalt des Weichkotes geleitet werden, was wohl auch sinnesphysiologisch sehr interessant ist.

Besiedelung des Neugeborenenendarmes

Interessant ist weiterhin die Frage, ob beim neugeborenen Meer-schweinchen eine besondere Flora vorhanden ist. Man hätte vermuten

können, daß ähnlich wie beim Menschen während der Säugeperiode eine dieser besonderen Ernährungsweise angepaßte, spezifische Blinddarmbesiedelung vorliegen würde, etwa derart, daß auch hier typische *bifidus*-ähnliche Bakterien vorkämen. Es wurden deshalb Meerschweinchen aus dem üblichen Lebensmilieu in kurzen Abständen nach der Geburt auf die bakterielle Besiedlung des Blinddarms hin untersucht. Dabei zeigte sich, daß bis 12 Std nach der Geburt der Blinddarm als kleines Gebilde ohne jeglichen Inhalt vorliegt. 24 Std nach der Geburt ließen sich nur unorganisierter strukturloser Inhalt feststellen, aber noch keine Bakterien oder Nahrungsreste. Nach 36 Std zeigte sich bereits eine geringe Besiedlung mit der von den erwachsenen Tieren her gewohnten Flora, die sich in keiner Weise nach einer besonderen Milchflora hin differenziert zeigte. Der Blinddarm war etwa auf das fünffache seiner ursprünglichen Größe angewachsen.

Wenn man die Frage nach der Herkunft stellt, so ist unter Normalverhältnissen diese leicht zu beantworten, da man beobachten kann, daß bereits in diesem Alter die Neugeborenen den Weichkot der Mutter fressen. Es liegen nun bei den Meerschweinchen allerdings besondere Verhältnisse vor, da die neugeborenen Tiere schon kurz nach der Geburt selbstständig sind und nach wenigen Stunden schon neben der Milchnahrung das Futter erwachsener Tiere annehmen. Untersuchungen an Nagetieren mit der gleichen Zusammensetzung der Flora, die aber nicht derart weitentwickelte Jungen zur Welt bringen, wären interessant. Bei diesen Tieren, die wesentlich länger durch reines Säugen ernährt werden und erst nach dem Sehendwerden auch ein anderes Futter annehmen, wäre eher mit einer besonderen Milchflora zu rechnen.

Im Zusammenhang mit der Besiedlung des Blinddarmes der Neugeborenen mußte trotz des beobachteten Kotfressens derselben beim Muttertier doch die Frage interessieren, ob hier etwa ein ähnlicher Vorgang zusätzlich noch besteht, wie er vom Menschen her bekannt ist. Die Übertragung des für die erste symbiontische Milchflora wichtigen *Bacterium bifidum* findet bekanntlich beim Menschen mit einer derartigen Sicherheit statt, daß die mütterliche Vagina einem bei den Insekten vorkommenden Beschmierorgan gleicherachtet wurde. Das *Bacterium bifidum* des Säuglingsdarmes und der DÖDERLEINsche Vaginalbacillus scheinen ja tatsächlich nur Standortvarietäten ein- und desselben Bacillus zu sein. Daß die Aufnahme der Keime beim Durchtritt durch die Geburtswege schon mit dem Munde erfolgt, ist durch eine Beobachtung von KLEINSCHMIDT gesichert, der das *Bacterium bifidum* bei einem Säugling feststellen konnte, der an Atresia ani litt, der also zwangsläufig die Bakterien nur durch den Mund aufgenommen haben konnte. Ist ein derartiger Vorgang auch beim Meerschweinchen anzunehmen? Zur Klärung dieser Frage wurden nun Vaginalabstriche von Meerschweinchen kurz ante

partum vorgenommen. Die Vaginalflora ist vorwiegend grampositiv. Die Mehrzahl der Bakterien sind grampositive Lactobazillen und danebenmäßig viel Kokken. An gramnegativen Keimen ist ein Stäbchen zu beobachten, das morphologisch dem aus dem Blinddarm beschriebenen gleicht, ebenso eine Spirochäte, wenn auch spärlich vorhanden. Nur äußerst spärlich finden sich Keime, die man als Abortivformen des Sichelkeimes ansprechen könnte. Sie sind kleiner und meist mehr von Wetzsteinform und wären kaum als mit den Sichelkeimen übereinstimmend anzusprechen, wenn sich nicht, das bei allen anderen Bakterien nicht zu beobachtende chromatophile Körnchen auch bei den Keimen aus diesem Standort finden würde. Daß diese morphologischen Unterschiede zu den Keimen im Blinddarm entstehen, erscheint bei den völlig andersartigen Ernährungsbedingungen durchaus begreiflich. Danach scheint mir die Vermutung, daß es sich bei beiden Standorten um die gleiche symbiontische Flora handelt, als zumindest nicht unwahrscheinlich. Ein exakter Beweis dazu ist naturgemäß nur sehr schwer zu erbringen. Um wenigstens einen weiteren gewissen Wahrscheinlichkeitsbeweis hinzuzufügen, trennte ich eben neugeborene Meerschweinchen, bei denen der Geburtsvorgang beobachtet wurde und die sicher noch nicht von dem Muttertier Weichkot gefressen hatten, sofort von diesem und ernährte sie künstlich mit Kuhmilch. Die eine Gruppe von neugeborenen Meerschweinchen wurde nunmehr mit der Flasche ernährt und den Tieren gleichzeitig Gelegenheit gegeben Heu zu fressen. Sie gewöhnten sich rasch an diese Ernährungsweise, zeigten allerdings gegenüber den bei ihrer Mutter belassenen Geschwistern der gleichen Würfe etwas langsames Wachstum. (Nach 14 Tagen hatten die bei der Mutter belassenen Tiere etwa 150 g, die mit der Flasche aufgezogenen 110 g erreicht.) Es zeigte sich, daß die Tiere die gleiche Flora aufwiesen wie die bei der Mutter verbliebenen, normalernährten Tiere. Die Jungtiere hatten also ihren Bakterienbestand auch ohne das übliche Kotfressen bei dem Muttertier erworben. Sehr ausgeprägt war das Bestreben bei den Geschwistern, jedes erscheinende Kotbällchen sofort aufzufressen, so daß überhaupt kein Kotbällchen liegenblieb. Da die Tiere räumlich völlig getrennt von anderen erwachsenen Meerschweinchen gehalten wurden und eine von dorthier mögliche Übertragung von Keimen bei der Fütterung mit der Flasche peinlichst vermieden wurde (vor jedem Füttern sorgfältiges Sterilisieren von Glasflasche und Gummisauger durch Auskochen), bleibt nur die Wahl, daß die Tiere die Bakterien bereits bei der Geburt oder aber über das verabreichte Heu aufgenommen haben müssen.

Eine andere Gruppe von Neugeborenen wurde ebenfalls sofort von ihren Müttern getrennt und in neuen, noch nicht von anderen Tieren bewohnten Käfigen nur mit Milch ernährt, ohne jede Gelegenheit

zellulosehaltige Nahrung aufzunehmen. Es wurden dieselben Kautelen beachtet, wie bei der vorher beschriebenen Gruppe. Die Milch wurde auch hier ungekocht und nur bis auf Körpertemperatur angewärmt, jeweils in Abständen von 2 Std, mit einer nächtlichen Pause von 4 Std verabreicht, wobei die Tiere stets 2—3 cm³ tranken, später auch mehr.

Nach 8 Tagen noch war nichts von einer normalen symbiontischen Flora zu entdecken. Vielmehr bestand die Flora einzig aus grampositiven Kokken der Enterokokkengruppe, gramnegativen Stäbchen, die den zelluloseabbauenden Stäbchen der erwachsenen Tiere vollkommen glichen und daneben Kurzstäbchen, die sich kulturell als Colibakterien erwiesen. Das reichliche Vorhandensein der Coliflora war nach den MilCHFütterungsversuchen an erwachsenen Tieren durchaus zu erwarten, man hätte denn annehmen müssen, daß bei den Jungtieren eine völlige Organresistenz gegen Coli vorhanden ist. Die Tiere wurden denn auch nach 8 Tagen sehr hinfällig und gingen an „Colienteritis“ ein. Wenn man derartige schon ziemlich hinfällige Tiere jedoch durch Streptomycinzugabe zur MilCHFütterung vor dem Überhandnehmen der Coliflora schützt, lassen sie sich beliebig lange am Leben erhalten. Beim Absetzen der Streptomycinzufütterung kommt es allerdings immer wieder zum Aufflackern der „Colienteritis“.

Der Versuch zeigt, daß beim Fehlen des natürlichen Substrates, wie es durch die Heufütterung schon zur Genüge gegeben wird, die Symbiontenflora nicht zur Entwicklung kommt.

Keimfreie Aufzucht

Zur Klärung der Frage, ob den obligaten Darmbakterien eine symbiontische Bedeutung zukommt, sind keimfreie Aufzuchtversuche, wie sie seit NUTTAL und THIERFELDER schon wiederholt unternommen wurden, sehr aufschlußreich. Allerdings waren diese Aufzuchtversuche bis in die neueste Zeit stets von Mißerfolgen begleitet insofern, als es im Laufe der Experimente immer wieder zur Infektion kam. Es ist eben die Frage der sterilen Nahrungszufuhr nur sehr schwierig zu lösen, und mit dieser wurden früher oder später dann die Keime eingeschleppt, die die Weiterführung eines bakterienfreien Versuches vereitelten. Das Ansetzen der Versuche bietet an und für sich keine unüberwindlichen Schwierigkeiten. Die Gewinnung eines keimfreien Neugeborenen ist durch Kaiserschnitt ja ohne weiteres möglich. Schwieriger ist schon die daran sich anschließende Aufzucht mit Milch, deren Gewinnung bei kleineren Versuchstieren schon erhebliche Mühe bereitet. Noch schwieriger ist es diese steril zu bekommen ohne wichtige Inhaltsstoffe zu denaturieren. Neben anderen Tieren, wie Ziegen (KÜSTER 1912) und Hunden (GLIMSTEDT 1946), wurden vor allem Meerschweinchen zu solchen Versuchen verwendet. NUTTAL und THIERFELDER berichten schon

bei ihren Experimenten davon, daß die Meerschweinchen ein sehr stark aufgeblähtes Coecum besitzen, das mit einer dünnen halbflüssigen Masse angefüllt war. Bei Experimenten von COHENDER und WELLMANN (1914 und 1922), die Meerschweinchen 29 Tage lang steril hielten, konnten interessanterweise Lähmungserscheinungen der hinteren Gliedmaßen beobachtet werden. Mittlerweile war die Vitaminforschung erheblich weitergekommen; deshalb trug man bei weiteren Versuchen den neuen Erkenntnissen Rechnung. Durch die Notwendigkeit des Sterilisierens aller Nahrung, die den Tieren zugeführt werden muß, mußten natürlich die darin enthaltenen Vitamine sehr leiden. Deshalb wurden entsprechend stark vitaminhaltige Substanzen, wie Hefeextrakte, Leberextrakte steril filtrierte Fruchtsäfte der Nahrung zur Vervollständigung beigelegt. Damit gelang es dann COHENDER u. WELLMANN die zuerst beobachteten Lähmungserscheinungen zu vermeiden.

GLIMSTEDT (1932—1937) führte Versuche mit Meerschweinchen in keimfreier Zucht bis zu 60 Tagen durch. Es wurde mit sehr ausgiebigen Vitaminzusätzen gearbeitet. Zwischen den keimfrei und den in normaler Umgebung aufgezogenen Tieren, die dieselbe und auch gleich behandelte Diät erhielten, ergaben sich keine Unterschiede. Auch bei diesen Versuchen zeigten die keimfrei lebenden Tiere bei ihrer Obduktion ein stark geblähtes Coecum.

Die vollkommensten Versuche wurden von REYNIERS und seinen Mitarbeitern in neuester Zeit ausgeführt. Es wurden Affen, Hunde, Katzen, Ratten, Mäuse, Kaninchen und auch Meerschweinchen steril aufgezogen. Dabei wurde mit einem sehr großen Aufwand an Material und Personal gearbeitet. Ein vollkommenes System, das aus 16 Zuchteinheiten besteht — es ist dies die kleinste Anzahl, die sich für die Arbeit als zweckmäßig erwies — wozu noch eine besondere Operationseinheit, ein Übertragungsgerät, zehn Vorratseinheiten und ein Untersuchungsgerät kommen, sowie die nötigen Heizungs-, Belüftungs- und Kontrollvorrichtungen, kostet über 100 000 Dollar. An Personal werden 21 Personen benötigt. Dementsprechend sind auch die Erfolge, die hiermit erzielt wurden, die bisher überhaupt besten auf diesem Gebiet. So konnten die Untersucher die Meerschweinchen bis zu einem Alter von 8 Monaten bringen. Das Wachstum war jedoch schlecht, obwohl die kompliziert zusammengesetzte Diät mit reichlichem Reinvitamin und Naturextrakten vervollständigt war. Die meisten Tiere starben schon bei einem Alter von 60 Tagen in einer Art von Hungerzustand. Auch hier zeigte sich wieder, daß der Blinddarm der Tiere enorm erweitert und mit einer halb flüssigen granulierten Masse angefüllt war. Interessant war auch die Beobachtung, daß die keimfrei aufgezogenen Tiere in allen Fällen äußerst gierig fraßen. Man hatte also den Eindruck, als ob sie trotz reichlichen Fressens an einem unstillbaren Hunger leiden würden.

Leider ist in keinem der Experimente eine Beschreibung davon zu finden, ob auch unter den Lebensbedingungen der sterilen Haltung die Tiere den Weichkot fressen.

Wenn man die Ergebnisse der Experimente zur Diskussion stellt, fällt auf, daß diese Tiere trotz reichlicher Versorgung mit allen bekannten Vitaminen dennoch über ein gewisses Alter nicht am Leben erhalten werden konnten. Dies läßt zwei Vermutungen zu: Entweder werden in der Nahrung durch das Sterilisieren doch noch unbekannte Stoffe zerstört, die trotz der starken Vitamingaben nicht ersetzt wurden — was allerdings bei der reichlichen Versorgung sowohl mit bekannten Vitaminen als auch mit rohem Hefe- und Leberextrakt, die beide ja auch noch unbekannte Stoffe ersetzen müßten, bei REYNIERS Versuchen wundernehmen muß. Oder es werden doch von den Darmbakterien zusätzliche Faktoren geliefert. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß mit dem Futter gelieferte Vitamine von den Tieren ohne Mithilfe der bakteriellen Symbionten gar nicht entsprechend ausgenutzt werden können (Coenzyme oder Vitaminumbau, bzw. Aktivierung).

Auffallend ist, daß die omnivore Ratte längere Zeit am Leben erhalten werden kann als Meerschweinchen. Bei den Ratten gelang es sogar, unter den sterilen Verhältnissen Würfe zu erzielen, also eine weite sterile Generation aufzuziehen (REYNIERS, TREXLER u. ERVIN).

Wenn auch diese Experimente keine sicheren Hinweise dafür liefern, daß der Hauptzweck der Symbionten in der Vitaminversorgung liegt, so zeigen sie andererseits auf jeden Fall, daß die so häufig angeführte Bedeutung für die Zelluloseverdauung, die ja unter diesen Bedingungen entfällt, es sicher auch nicht ist. Jedenfalls genügt die Ausnützung der Nahrung auch ohne den bakteriellen Zelluloseabbau, um den Kalorienbedarf zu decken.

Leider wurden die beschriebenen Versuche samt und sonders von anatomisch interessierten Forschern durchgeführt und dementsprechend die Versuchsanordnung in dieser Richtung eingestellt. Die hier zur Diskussion stehenden Fragen wurden deshalb nicht in der wünschenswerten Form bearbeitet. Den Tieren wurde jeweils ein Überangebot an Vitaminen zur Verfügung gestellt, um ein möglichst optimales Wachstum, auch unter diesen unnatürlichen Bedingungen, zu erzielen. Es ging ja bei den Versuchen nur darum, festzustellen, welche Gewebe beim Fehlen der bakteriellen Einwirkung nicht oder nur schwach entwickelt würden.

Wenn aber derartige Experimente für die hier zur Diskussion stehenden Fragen aufschlußreich sein sollen, dann hat nur eine Ernährung mit einer Diät Interesse, deren Vitamingehalt genau bekannt und in bezug auf das Fehlen eines Vitamins genau regelbar ist. Erst dann ließe sich gegenüber einer Kontrollgruppe bakterientragender Tiere, die die gleiche Diät erhalten, die wahre Vitaminproduktion dieser Bakterien ermitteln.

Noch interessanter würden natürlich diese Experimente, wenn es gelänge, die steril aufgezogenen Tiere mit einer rein gezüchteten Symbiontenart zu infizieren und dann das Verhalten zu studieren. Wie bereits schon einmal erwähnt, sind solche Experimente aber viel zu kostspielig als daß man hier an ihre Durchführung denken könnte, so interessant und aufschlußreich sie auch wären. Es bleibt deshalb kein anderer Weg übrig, als zu versuchen, auch mit unsterilen Methoden gewisse Einblicke in das intestinale Geschehen zu gewinnen. Dazu hat sich mit den neuen chemotherapeutischen Mitteln der Sulfonamid- und Antibiotikareihe den experimentellen Untersuchungsmethoden ein großes Feld aufgeschlossen.

Antibiotikaversuche

Seit langem fiel die hochgradige Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen Penicillin auf, eine Empfindlichkeit, die sie aus den übrigen meist verwendeten Versuchstieren Maus und Ratte völlig heraushebt. Sie wurde erstmals von KILLIAN u. HERRELL erwähnt, ohne daß sie nähere Ausführungen über die Ursachen machten. Sie sprachen lediglich die Vermutung aus, daß die normale Flora des Meerschweinchens grampositiv sei und diese wegen der besonders hohen Empfindlichkeit der grampositiven Bakterien gegen Penicillin besonders stark geschädigt werde. Sie führten auch Versuche aus, durch Vitamin-C-Gaben die Schädigung auszuschalten, was aber zu keinem Erfolg führte. MIESCHER u. BÖHM betonen vor allem die geringen Veränderungen, die sich bei der Sektion ergaben und kommen auf Grund des Befundes von hyperämischen Nebennieren zu der Annahme, daß die Todesursache die gestörte Funktion der Nebennieren sei. Sie halten die toxische Penicillinwirkung in erster Linie für eine Gefäßwirkung und glauben, daß es sich gar nicht um eine direkte toxische Penicillinwirkung, sondern um eine sekundäre Auslösung der Produktion von toxischen Stoffen unter dem Penicillineinfluß handeln müsse. Nur am Rande wird von diesen Autoren die starke Blähung des Darmtraktes konstatiert. Erstmals auf den Darmbefund gehen TONUTTI u. MATZNER, TONUTTI, u. KOCH und Mitarbeiter näher ein. Es wird besonders auf die Latenzzeit hingewiesen, die bis zum Tode des Tieres nach der Injektion notwendig ist, und die sich auch durch größte Dosen nicht abkürzen läßt. Dies spricht allein schon gegen eine toxische Wirkung. Die Nebennierenreaktion dagegen wird von ihnen im Sinne einer SELJESchen Alarmreaktion aufgefaßt. Sie erkennen den Verdauungstrakt als primären Ort der Schädigung auf Grund der histologischen Veränderungen der Darmschleimhaut wie Blutumlafstörungen, Exsudation, Durchtritt von Erythrocyten, Abhebung und Nekrose des Zottenepithels und Zottenstromas.

Damit ist das Augenmerk auf das Auftreten einer Enteritis gerichtet. E. RUSCHMANN geht dann auf diese Enteritis näher ein. Sie schreibt:

„Der Dünndarm war mit gelblicher, von Gasblasen durchsetzter Flüssigkeit gefüllt, ebenso zeigte auch der Dickdarm breiig flüssigen Inhalt.“ Merkwürdigerweise wird der doch bei den Meerschweinchen so stark auffällige Blinddarm mit keiner Silbe erwähnt. (Ob dieser wohl für einen Teil des Dickdarmes gehalten wurde?)

Bei der bakteriologischen Untersuchung ergab sich ein reiches Wachstum sowohl lactosespaltender als auch lactosenegativer Coli-Kolonien, *Aerobacter aerogenes*, *Bacterium proteus*, grampositive Stäbchen und grampositive Kokken der Enterokokkengruppe. Auch im Dünndarminhalt wurde *Bacterium coli* nachgewiesen, außerdem auch häufig im Mageninhalt.

Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich zwar das gleiche kulturelle Bild mit Vorherrschen der Colibakterien, im mikroskopischen Präparat jedoch zeigt sich, daß durchaus grampositive Kokken, die ihrem Aussehen nach als Enterokokken anzusprechen sind, und die sich auch kulturell nachweisen lassen, vorherrschen, daneben die gramnegativen Kurzstäbchen der Coligruppe. Völlig verschwunden aber sind die charakteristischen Sichelkeime der *Cellfalcicula*-Gruppe und auch die Spirochäten. Geblieben sind jedoch die gramnegativen Stäbchen der *Cytophaga*-Gruppe. Dieses Bild ergibt sich, ganz gleichgültig auf welchem Wege man das Penicillin dem Tier zuführt, ob durch Injektion oder durch Magensondenfütterung. Es zeigt sich also, daß es sich dabei um eine echte Penicillinschädigung der normalen Darmflora handelt. Mit dieser fällt der eigene antibiotische Schutzwall gegen Fremdkeime weg, die penicillinunempfindlichen Colibakterien gewinnen die Oberhand, und führen letzten Endes zum Tode. Dasselbe Erscheinungsbild läßt sich im übrigen auch durch massive Fütterung der Meerschweinchen mit Colibakterienkulturen erreichen, besonders bei gleichzeitiger zusätzlicher Diätänderung, wie reichlicher Zuckerzufuhr oder durch andere exogene Schädigungen. Das klinische Bild der Penicillinschädigung bietet im Endstadium relativ wenige Symptome: Gesträubtes Fell, Freßunlust, frühzeitiges Absinken der Körpertemperatur. Die Obduktion ergibt eine relativ geringe entzündliche Veränderung des Darmes. Am auffälligsten sind Blutungen in den Nebennieren und vereinzelte blutig belegte Ulcerationen der Magen- und Duodenalschleimhaut.

Auf diese Verhältnisse gingen auch ROLLE u. MAYER ein, die ebenfalls zu der Schlußfolgerung kommen, daß durch das Penicillin die symbiontische Darmflora des Meerschweinchens zerstört werde und dadurch die von diesen hervorgerufene Antibiose vernichtet wird, was zum nachfolgenden Wuchern der Colibakterien führt. Sie haben vereinzelt Meerschweinchen beobachtet, die von vorneherein schon eine gewisse Coliflora im Darm beherbergen. Diese Coliflora vernichtet durch ihre Penicillinasewirkung das in den Darm ausgeschiedene Penicillin,

wodurch es nicht zu einem Absterben der Symbiontenflora kommt. Diese Tiere hätten deshalb die Versuche überlebt. Ich selbst konnte derartige Tiere nicht beobachten. Ob es sich dabei um Fütterungseigentümlichkeiten handelt oder ob die „Coli bzw. die coliähnlichen Bakterien“ vielleicht zu anderen nahe verwandten gramnegativen Gruppen gehören, ist nicht zu beurteilen. Penicillinasebildner sind schließlich auch in der Gruppe der coliähnlichen Bakterien nicht selten. Auffallen muß, daß die wenigen auch von ROLLE u. MAYER nur vereinzelt nachgewiesenen Colikeime schon eine derart kräftige Penicillinaseproduktion aufweisen sollen, daß diese genügt, das in den Darm abgeschiedene Penicillin zu zerstören. Anders liegt allerdings der Fall, wenn in den weiteren Versuchen von ROLLE und MAYER „vor, während, oder kurz nach der Penicillingabe Coli- bzw. coliähnliche Kulturen (Parakoli) peroral verabreicht werden.“ Dann ist die Penicillinase, die mit der Kultur zugeführt wird, durchaus imstande, die Penicillinwirkung auf die Symbionten völlig aufzuheben, wodurch wiederum diese instand gesetzt werden, das Angehen der Coliinfektion zu verhindern. Daß diese Tiere also nicht starben, nimmt nicht wunder und bestätigt somit die Bedeutung der Symbionten als Verhüter einer Fremdinfection. ROLLE u. MAYER (1953) berichten auch, daß bei allen anderen Tierarten, die *Bacterium coli* als Symbionten im Darmkanal besitzen, Penicillingabe zu einer Unterdrückung grampositiver Mikroorganismen führen soll „und daß damit der ungestörten Entwicklung der Colikeime der Weg geebnet wird“. Bei einer normalen symbiontischen Coliflora im Darm ist mit Sicherheit soviel Penicillinase vorhanden, daß von einer Penicillinwirkung auf die eventuell sonst noch vorhandenen grampositiven Keime nicht die Rede sein kann.

Weiterhin wurde von mir Aureomycin zu derartigen Versuchen angewandt, wobei sich ergab, daß dieses Antibiotikum ebenfalls zu einer Schädigung der symbiontischen Flora führt und deshalb, wenn auch später als bei Penicillin, zur Colienteritis und damit zum Tod des Tieres führt. Die Ausstriche des Blinddarminalhaltes ergeben im mikroskopischen Präparat ein völliges Verschwinden der symbiontischen *Cellulaccula* und ein Vorwiegen von gramnegativen Stäbchen. Die kulturellen Untersuchungen liefern ein reichliches Wachstum von *Bacterium coli* und *Aerobacter aerogenes*.

Im Gegensatz dazu führte die Verabreichung von Erythromycin zu keiner Schädigung der spezifischen Darmflora, obwohl dieses Medikament seiner hohen Wirksamkeit gegenüber grampositiven Staphylokokken dazu führen müßte, wenn, wie RUSCHMANN vermutet, die obligate Darmflora des Meerschweinchens grampositiv wäre. Die Ausstrichpräparate von getöteten Tieren ergaben nur ein geringfügiges Zurückgehen aller

Bakterien wiederum nach einer Gabe von 10 mg pro 500 g Meerschweinchen mit Schlundsonde über 5 Tage hinweg.

Als noch besser verträglich erwies sich bei gleicher Fütterungsart unter gleicher Dosierung Neomycin, das im mikroskopischen Präparat überhaupt keine Beeinflussung der von mir als symbiontisch angesehenen Bakterien ergab und sogar darüber hinaus ein Zurückgehen der sonst noch vorhandenen, wohl saprophytischen grampositiven und gramnegativen Keime brachte. Dementsprechend vertragen die Tiere die Fütterung auch, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen aufzuweisen.

Chloromycetin hätte seiner sonst bekannten starken Wirkung gegen gramnegative Bakterien, insbesondere der Coli-Salmonella-Gruppe kein Auftreten einer „Colienteritis“ erwarten lassen, doch führt es offenbar gleichzeitig auch zu einer Schädigung der spezifischen Flora und dann treten ähnliche Verhältnisse auf, wie ich sie bei Aureomycin schilderte, die Einwanderung von Colibakterien erfolgt rascher als der Wiederaufbau einer genügend kräftigen eigenständigen Blinddarmflora.

Aus diesen Fütterungsversuchen mit Antibioticis ergibt sich demnach eine weitere Funktion der symbiontischen Flora, nämlich der eines Schutzes gegen Fremdinfection.

Immer dann, wenn eine von außen einsetzende Schädigung die normale Darmflora an dieser ihrer wichtigen Funktion hindert, kommt es zu einer Ausbreitung der ubiquitären und für das Meerschweinchen hochpathogenen Colibakterien, was meist zum Eingehen des Tieres führt.

Diskussion der Ergebnisse

Überblickt man die angeführten Versuche und Beobachtungen in ihrer Gesamtheit, dann lassen sich daraus verschiedene Folgerungen ableiten. Am auffälligsten ist zunächst die erstaunliche Übereinstimmung, die sich bei nahe verwandten Arten aus der gleichen Familie der Nagetiere ergibt. Wie die Untersuchungen zeigen, ist es aber durchaus auch möglich, daß sich Parallelen der Flora bei Arten finden, die im System relativ weit voneinander entfernten Familien angehören. Ein Beispiel für diesen letzteren Fall zeigt *Cavia porcellus*, aus der Überfamilie Cavioidea, die doch eine weitgehend ähnliche Flora wie die Angehörigen der Unterfamilie Microtinae besitzt, obwohl sie in dem herkömmlichen System durch viele andere Überfamilien voneinander getrennt sind. Das mag daran liegen, daß kein künstliches System sowohl allen morphologischen als auch physiologischen Bedingungen gerecht werden kann. Welchem der beiden Ordnungsprinzipien das Primat gebührt, ist schwierig zu entscheiden. Jedenfalls erhebt sich in diesem Falle die Frage, ob die obligate Blinddarmflora die Verwandtschaftsbeziehungen nicht deutlicher aufzeigt als manches andere

Merkmal. Sie ist ja stets so wohldefiniert, daß man aus dem Ausstrichpräparat geradezu auf die verwandtschaftlichen Beziehungen rückschließen kann. Freilich lassen sich aus den wenigen bisher zur Verfügung stehenden Arten keine weitgehenden Folgerungen ziehen. Es wäre zu wünschen, eine möglichst große Anzahl von Arten für weitere Untersuchungen in dieser Richtung zu erhalten, um auch diesen Fragenkomplex einer weiteren Klärung zuzuführen.

Bei den bis jetzt untersuchten Nagetieren und Lagomorphen ergibt sich mit großer Deutlichkeit auch aus dieser Perspektive die Notwendigkeit der Trennung dieser beiden früher vereinigten Ordnungen. Die Lagomorphen trennen sich mit ihrer Sporenbildnerflora scharf von allen anderen bisher untersuchten Arten. Bei der Ordnung Rodentia selbst zeichnen sich zwei Formenkreise der Flora ab, der der Coliflora und der der *Cellfalcicula*-Flora, wobei sich die letztere in zwei Unterformen aufteilt, deren eine mit, deren andere ohne Spirochätenunterlagerung vorkommt, wie dies aus der beigegeführten Tabelle zu ersehen ist. Zumindest die letzten beiden Formen erfüllen völlig die Bedingungen, wie sie BUCHNER seinem Werk „Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen“ voranstellt: „Wir verstehen unter Endosymbiose ein gesetzmäßiges, ohne wesentliche Störungen ablaufendes Zusammenleben zweier verschieden gearteter Partner, bei dem der eine im Körper des anderen, zumeist wesentlich höher organisierten Aufnahme findet und die wechselseitige Anpassung einen solchen Grad der Innigkeit erreicht hat, daß die Vermutung berechtigt ist, es könne sich dabei um eine dem Wirtsorganismus nützliche Einrichtung handeln.“ An der Nützlichkeit der Blinddarmflora kann wohl angesichts der Tatsache nicht mehr gezweifelt werden, daß die Tiere eingehen, wenn man sie am Fressen der im Blinddarm gezüchteten Bakterien hindert oder aber wenn man überhaupt das Wachstum der Flora durch entsprechende Medikamente verhindert. Auch die Funktion der Abwehr fremder Keime ist schließlich eine, beim Meerschweinchen zumindest, nützliche Funktion. Ob der ursprünglich als Hauptfunktion angesehene Zelluloseaufschluß tatsächlich von Bedeutung ist, scheint mir noch nicht mit genügender Sicherheit bewiesen zu sein.

Die gesetzmäßige Zusammensetzung der Flora ist endogen bedingt. Das beweist ihr Entstehen in ihrer definierten Zusammensetzung, obwohl bei der Erstbesiedelung des Neugeborenenendarmes eine Vielzahl von Bakterien zur Auswahl stehen. Es muß vom Wirt eine Begünstigung der erwünschten Keime stattfinden, da anders es nicht zu erklären ist, daß die langsam sich teilenden Keime vor wesentlich rascher wuchernden Mikroben zuerst sich das Feld erobern. Denn die Möglichkeit sich anzusiedeln hätten ja die ubiquitären Colibakterien ebenso, wie die Versuche

mit Penicillinsterilisierung beweisen. Warum der beim Neugeborenen offenbar vorhandene Hemmechanismus gegenüber *Bacterium coli* im späteren Leben nicht mehr in Funktion tritt, war zuerst nicht zu erkennen. Handelt es sich dabei vielleicht um eine Fähigkeit der Darm-schleimhaut, die nach kurzem schon verlorengeht? Die Versuche an den rein milchernährten Neugeborenen scheinen das anzudeuten, da die Resistenz gegen die Colibesiedelung nach 8 Tagen etwa zu schwinden beginnt. Unter normalen Verhältnissen wird allerdings die Coliresistenz des Neugeborenen nicht allzusehr in Anspruch genommen, da ja durch die Aufnahme der Coecotrophe des Muttertieres zusätzlich dafür gesorgt wird, daß die benötigten Symbionten zum Aufbau der erwünschten Flora reichlichst zur Verfügung stehen. Bei den für sich allein bei Kuhmilch- und Heufütterung gehaltenen Tieren war das ja aber nicht möglich und trotzdem kam es, wenn auch etwas verzögert, zum Aufbau einer normalen Blinddarmbesiedelung.

Wenn man Streptomycintieren zusätzlich auch über die Antibiotikumgabe hinaus Polyvitaminkonzentrat verabreicht, entgehen sie der drohenden Colienteritis leichter, wobei anschließend noch zu klären sein wird, ob es sich bei der Colienteritis wirklich um die letale Noxe handelt.

Es ist zu vermuten, daß es sich bei dem oben angedeuteten Hemmechanismus um einen solchen handelt, der durch Vitamin entweder aktiviert wird, oder aber sogar bedingt ist. Beim Neugeborenen wird der dazu nötige Vitaminbedarf durch die Milch des Muttertieres geliefert und ergänzt durch die mütterliche Coecotrophe. Auch durch die Kuhmilch kann der Bedarf zeitweilig gedeckt werden. Auf die Dauer scheint aber deren Gehalt besonders an Pantothensäure ($50 \mu/100 \text{ cm}^3$), der mir nach den geschilderten Versuchen als der wichtigste Faktor erscheint, doch nicht auszureichen.

Die Rolle, die die Pantothensäure möglicherweise auch in dem Zusammenhang Symbiontenflora-Colienteritis spielt, muß meines Erachtens auch noch einmal von einer anderen Seite aus diskutiert werden. Wie eingangs erwähnt, produziert *Bacterium coli* auf der einen Seite Vitamine und hat so als Symbiont des Menschen hohe Bedeutung, auf der anderen Seite benötigt das Bakterium aber selbst auch für seinen Stoffwechsel Vitamine und entzieht damit dem Wirtstier die selbst benötigten Stoffe. Es besteht nun durchaus die Möglichkeit, daß es sich bei dem Schaden, der durch die Überwucherung der Darmflora durch *Bacterium coli* gesetzt wird, letzten Endes nur um einen dadurch hervorgerufenen akuten Vitaminmangel handelt. Das auffällige Übereinstimmen der Latenzperiode bis zum Tode sowohl bei den Versuchen mit Coecotrophiebehinderung als auch bei Penicillinverabreichung spricht dafür. Diese Ansicht wird noch bestärkt durch den relativ geringen

Befund an der Darmschleimhaut, von dem noch dazu ja gar nicht bewiesen ist, ob er primärer oder sekundärer Natur ist. Bei Ratten beobachteten BERG und Mitarbeiter bei Pantothen säuremangel atrophische Erscheinungen an der Darmschleimhaut. Besonders aber auch die Ulcera der Magen- und Duodenalschleimhaut bei den an der Penicillinverabreichung gestorbenen Tiere zeigt gute Übereinstimmung mit den gleichen Symptomen, die ebenfalls BERG beobachtete. Am auffälligsten aber ist der Nebennierenbefund, für dessen Erklärung eine SELYESche Alarmreaktion herangezogen wurde. DUMM und Mitarbeiter beschreiben diesen Befund als charakteristisch für Pantothen säuremangel ebenfalls wieder bei Ratten. Ich möchte deshalb zur Diskussion stellen, ob sich nicht der ganze Symptomenkomplex nach den nun vorliegenden Befunden viel zwangloser als bisher allein aus der zentralen Schau des Vitaminmangels erklären läßt.

Damit rücken aber auch wiederum die für die Vitaminsynthese verantwortlichen Bakterien erneut in den Mittelpunkt der Betrachtung. Da eine direkte Züchtung und damit Untersuchung etwa auf Pantothen säure und anderen Vitamingehalt sich als undurchführbar erwies, bleibt nur übrig per exclusionem zu einem Ergebnis zu gelangen.

Zur Diskussion stehen beim Meerschweinchen drei Keime, die für die Vitaminproduktion verantwortlich sein könnten, die drei Keimarten, die zahlenmäßig so stark überwiegen und so vollkommen regelmäßig vorkommen, daß nur sie als Symbionten überhaupt in Frage kommen: *Cellfalcicula*, *Cytophaga* und *Spirochaeta*. Von diesen drei Keimarten zeigt *Cytophaga* die weiteste Verbreitung bei den Nagetieren. Sie kommt auch bei Hausmaus — hier besonders der weißen Laboratoriumsmaus — und Ratte vor, die sich beide als nicht penicillinempfindlich erwiesen haben. *Cytophaga* überlebt auch die Penicillineinwirkung beim Meerschweinchen. Diese Art kann also für die Vitaminproduktion nicht gut in Frage kommen, da ja sonst der Ausfall der verschiedensten Versuche nicht erklärbar wäre. Von den beiden übrigen Arten kommt die *Spirochaeta* bei den Mikrotinen überhaupt nicht vor, würde also bei diesen Arten auch für die Vitaminproduktion nicht in Frage kommen können. Wenn man also nicht annehmen will, daß bei jeder Art ein anderes Bakterium die Rolle des Vitaminlieferanten übernimmt, darf wohl *Cellfalcicula* als der für diese Funktion in Betracht kommende Keim angesehen werden. Damit stimmen alle für diese Frage einschlägigen Experimente überein. Das würde auch der Tatsache entsprechen, daß die Tiere mit *Cellfalcicula*-Flora gegen Entzug der Coecotrophe wesentlich empfindlicher sind als etwa Kaninchen mit ihrer von Sporenbildnern beherrschten Blinddarmbesiedelung. Von ihnen beschreibt HARDER noch nach einer Versuchsdauer von 72 Tagen keine schweren Schädigungen.

Nur in der Gewichtsentwicklung waren die Tiere ohne Grünfütterung beeinträchtigt. Bei diesen Tieren scheint sich also die Abhängigkeit von den Darmsymbionten nicht zu einer derartigen Höhe entwickelt zu haben wie bei den *Cellfalcicula*-Trägern. Wieweit die Abhängigkeit bei den Nagern mit Coliflora geht, bedarf noch der Klärung. Dahingehende Untersuchungen sind bereits angelaufen.

Daß Pantothenensäure für sich allein nicht der einzig wichtige Faktor ist, bewiesen die Versuche. Es zeigt sich vielmehr, daß die Symbiontenflora eine ganze Reihe von Vitaminen produzieren muß, um den Erfordernissen des Vitaminbedarfs gerecht zu werden. Ja, die Versuche an Kragentieren bei Grünfütterung beweisen sogar, daß die Flora Vitamine zu liefern imstande ist, die in der natürlichen, auch grünen Nahrung nicht vorkommen. Es ist durchaus denkbar, daß dabei auch vitaminartige Faktoren eine Rolle spielen, die überhaupt noch nicht bekannt sind. Bedauerlich ist nur, daß die Coecotrophe für Extraktionsversuche, wegen ihrer äußerst schleimigen Konsistenz beim Auflösen, ein sehr unhandliches Untersuchungsobjekt darstellt.

Aus all dem ergibt sich, daß beim Nagetierblinddarm noch manches Problem seiner Lösung harrt, das nicht nur bei diesen Tieren selbst, sondern auch darüber hinaus von Interesse sein dürfte.

Zusammenfassung

1. Es wurde die Blinddarmflora verschiedener Vertreter der Ordnungen Lagomorpha und Rodentia untersucht. Dabei konnten 4 Typen von wohldefinierter Zusammensetzung ermittelt werden. Nach dem charakteristischsten Keim sind zu unterscheiden:

a) *Cellfalcicula*-Flora mit Spirochäten (*Cavia*, *Clethrionomys*, *Mesocricetus*).

b) *Cellfalcicula*-Flora ohne Spirochäten (*Microtus*, *Arvicola*, *Pitymys*)

c) Coli-Flora (*Rattus*, *Mus*, *Apodemus*).

d) Sporenbildner-Flora (*Oryctolagus*, *Lepus*).

2. Nahe verwandte Arten weisen den gleichen Typ der Flora auf, jedoch können auch bei weit entfernten Arten Parallelen in der Zusammensetzung auftreten.

3. Die obligaten Darmbakterien erweisen sich als äußerst schwer züchtbar. Weder auf flüssigen, noch auf festen Nährböden, weder aerob, noch anaerob ließ sich trotz zahlreichster Variationen der Nährböden eine Kultur der Keime erzielen.

4. Zur Klärung der Frage, ob die obligaten Darmkeime eine echte symbiontische Bedeutung besitzen, wurde eine Anzahl von Tierversuchen mit Meerschweinchen durchgeführt:

a) Die Behinderung der Tiere, ihren Weichkot zu fressen, führt binnen kurzem zu ihrem Tod. Dieser erfolgt um so rascher, je einseitiger ihre Ernährung ist.

b) Zur Ergänzung wurden mit der Mangelnahrung (Heu) Aneurin und Pantothensäure in Reinsubstanz verabreicht, die sich als unwirksam erwiesen, sowohl jeweils für sich allein, als auch in Kombination das Vitamindefizit auszugleichen.

c) Ein Polyvitaminkonzentrat vermag sämtliche fehlenden Vitamine zu ergänzen, so daß die Tiere die Coecotrophiebehinderung ertragen, ohne Schaden zu nehmen.

d) In der Coecotrophe muß ein Vitamin vorliegen, das selbst in Grünfutter und Körnern nicht enthalten ist.

e) Die Rolle des Blinddarms als Ort der Zelluloseverdauung ist wenigstens hinsichtlich des Kaloriengewinnes durchaus fraglich.

f) Trotz des bekannt hohen Proteingehaltes der Coecotrophe (Bakterieneiweiß) läßt sich eine Notwendigkeit der Coecotrophie aus diesem Grunde nicht beweisen.

g) Für die kontinuierliche Bildung der Coecotrophe sprechen die im Blinddarm beobachteten Keimvermehrungsverhältnisse.

h) Die durch Instinkt geleitete Aufnahme der Coecotrophe eröffnet interessante sinnesphysiologische Perspektiven.

i) Der Aufbau der obligaten Flora ist bereits 36 Std nach der Geburt abgeschlossen. Die Versorgung mit den Keimen erscheint sowohl beim Durchtritt durch die Scheide als auch durch Coecotrophie an der Mutter möglich.

k) Durch verschiedene Antibiotika werden unterschiedliche Teile der Darmflora eliminiert. Dadurch lassen sich in bestimmten Fällen die gleichen Vitaminmangelercheinungen erzielen wie durch Coecotrophiebehinderung.

5. Es ergaben sich also für das Vorliegen einer echten Symbiose folgende Beweisgründe:

a) Für jede Tierart ergibt sich eine in Form und Häufigkeit charakteristisch zusammengesetzte Flora.

b) Diese ist gegen natürliche äußere Einflüsse relativ resistent.

c) Bei der Erstbesiedelung des Neugeborenenendarmes kommen nur die artcharakteristischen Keime zur Entwicklung, wobei eine deutliche Selektion von seiten des Tieres zu beobachten ist. Die Übertragung erfolgt durch Vagina und Kotfressen gesetzmäßig.

d) Die Kultur der symbiontischen Keime gelang nicht. Das beweist ihr enges Abhängigkeitsverhältnis vom Tier.

e) Auf der anderen Seite beweist das Tier seine Abhängigkeit von den obligaten Blinddarmkeimen dadurch, daß es ohne sie zugrunde geht.

Literatur

- BAUMATZ, S.: Über den Bakteriengehalt des Magens und des Dünndarms von gesunden Meerschweinchen. Zbl. Bakter. I Orig. **95**, 191—202 (1925). — BERGEYS, Manual of determinative bacteriology. Baltimore 1948. — COHENDY, M., u. E. WOLLMANN: Expériences sur la vie sans microbes. Élevage aseptique de cobayes. C. r. Acad. Sci. Paris **158**, 1283—1284 (1914). — BUCHNER, P.: Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Stuttgart 1953. — EDEN, A.: Coprophagy in the rabbit. Nature (Lond.) **145**, 36—37 (1940). — GLIMSTEDT, G.: Das Leben ohne Bakterien. Sterile Aufzucht von Meerschweinchen. Anat. Anz., Erg.-H. **75**, 79—89 (1932). — Der Stoffwechsel bakterienfreier Tiere. I. — Allgemeine Methodik. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **73**, 48—62 (1936). — Bakterienfreie Meerschweinchen. Aufzucht, Lebensfähigkeit und Wachstum, nebst Untersuchungen über das lymphatische Gewebe. Acta path. scand (Københ.) Suppl. **30** (1936). — Die Gewinnung von Meerschweinchenmilch. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **76**, 148—157 (1937). — GROSSMANN, W.: Das Verhalten des *Bacterium coli* im Darm des Meerschweinchens. Diss. München 1952. — GUTSCHER, H.: Über experimentelle Coliascendenz im Dünndarm des Meerschweinchens. Zbl. Bakter. I Orig. **123**, 448—456 (1932). — HARDER, W.: Zur Morphologie und Physiologie des Blinddarms der Nagetiere. Verh. dtsh. Zool. **1949**, 95—109. — HARDER, W., I. FRANK u. U. HARDELER: Zur Ernährungsphysiologie der Nagetiere. Über die Bedeutung der Coecotrophie und die Zusammensetzung der Coecotrophe. Pflügers Arch. **253**, 173—180 (1951). — HERRELL, W. E., u. E. SCHULZE: Penicillin und andere Antibiotica. Stuttgart: S. Hirzel 1949. — KILLIAN, H.: Die Penicilline. Arzneimittel-Forsch. **4** (1948). — KOCH, E., F. HEISS u. R. SCHNEIDER: Medizin **2**, 1184 (1952). — KÜSTER, E.: Die keimfreie Züchtung von Säugetieren und ihre Bedeutung für die Erforschung der Körperfunktionen. Zbl. Bakter. I Ref. **54**, 55—58 (1912). — Die Gewinnung und Züchtung keimfreier Säugetiere. Dtsch. med. Wschr. **1913**, 1586—1588. — Aufzucht keimfreier Säugetiere. In E. ABDERHALDEN: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. IV, 419—436. 1925 — MANGOLD, E.: Die Bedeutung der Magen- und Darmsymbionten der Wirbeltiere. Erg. Biol. **19**, 1—81 (1943). — METSCHNIKOFF, O.: Note sur l'influence des microbes dans le développement des tétards. Ann. Inst. Pasteur **15**, 631—634 (1901). — MIESCHER, A., u. C. BÖHM: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 821. — NUTTAL, G., u. H. THIERFELDER: Thierisches Leben ohne Bakterien im Verdauungskanal. Z. physiol. Chem. **21**, 109—121 (1895/96). — PEARSON, P. B.: The effect of coprophagy on the excretion of B-Vitamins by the rabbit. J. Nutrit. **49**, 639—645 (1953). — REYNIERS, J. A.: The use of germ-free guinea pigs in bacteriology. I. Preliminary report concerned especially with technique. Proc. Indiana Acad. Sci. **42**, 35—37 (1932/33). — REYNIERS, J., Th. TREXLER and R. ERVIN: Rearing germ-free albino rats. Lobund Rep. **1**, 1—84 (1946). — Germ-free life applied to nutrition studies. Lobund Rep. **1**, 87—120 (1946). — ROLLE, M., u. H. MAYER: Über das Wesen der Penicillinwirkung bei Meerschweinchen unter besonderer Berücksichtigung der Darmsymbionten. Arch. f. Hyg. **137**, 596 (1953). — Untersuchungen über die Darmflora des Meerschweinchens. Arch. f. Hyg. **138**, 505 (1954). — ROSS, W. C., and L. C. SMITH: The roll of alimentary microorganisms in the synthesis of nonessential

aminoacids. J. of Biol. Chem. **187**, 687—695 (1950). — RUSCHMANN, E.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Penicillintoxicität, 1., 2., 3. Mitt. Z. Hyg. **140**, 248—349 (1954). — SCHEUNERT, A., u. K. ZIMMERMANN: Bakterielle Synthese im Blinddarm und Koprophagie beim Kaninchen. Arch. Tierernähr. **2**, 217—222 (1953). — TAYLOR, E.: Pseudo-rumination in the rabbit. Proc. Zool. Soc. Lond. **110**, 159—163 (1941). — TONUTTI, E.: Zbl. Neur. **112**, 140 (1950). — TONUTTI, E., u. H. MATZNER: Klin. Wschr. **1950**, 516. — WINOGRADSKY, S.: Études sur la microbiologie du sol. Ann. Inst. Pasteur. **43**, 549—633 (1929).

Dr. WILHELM KELLNER, Nürnberg, Wirthstr. 12

Aus dem Zoologischen Institut München, Abt. Paul-Buchner-Institut
für experimentelle Symbiosenforschung

MORPHOLOGISCHE UND EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ENDOSYMBIOSE DER KORNUND REISKÄFER (*CALANDRA GRANARIA* L. UND *CALANDRA ORYZAE* L.)*,**

Von

HANS SCHNEIDER

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Oktober 1955)

Inhaltsübersicht

	Seite
I. Einleitung	556
II. Geschichtlicher Überblick und Problemstellung	557
III. Material und Methoden	560
1. Zur Biologie der untersuchten Tiere	560
2. Haltung und Züchtung	561
3. Die histologische Technik	561
4. Der symbiontische Zyklus	562
IV. Morphologische und anatomische Untersuchungen	562
1. <i>Calandra granaria</i> L. und <i>Calandra oryzae</i> L., ein Vergleich	562
2. Das larvale Bakterienorgan	564
3. Das Verhalten der Symbionten in den Imagines	569
V. Versuche am larvalen und imaginalen Symbiontenbestand	574
1. Zentrifugieren der Eier	574
2. Hungerversuche	575
3. Der Einfluß erhöhter Temperaturen auf den Symbiontenbestand	575
a) <i>Calandra granaria</i>	577
b) <i>Calandra oryzae</i>	586
c) Die Grenzen der Thermosensibilität der Symbionten von <i>C. granaria</i> und <i>C. oryzae</i>	590
4. Das Verhalten der Symbionten und ihrer Wirte bei niederen Temperaturen	595
5. Versuche mit antibiotischen Wirkstoffen. Aureomycin und Terramycin	596
VI. Das Verhalten der sterilen Bakterienorgane bei Larven und Imagines	603
VII. Das Nutzproblem der <i>Calandra</i> -Symbiose	606
1. Untersuchungen an symbiontenhaltigen und symbiontenfreien Korn- und Reiskäfern	606
2. Versuche mit dem Reismehlkäfer <i>Tribolium confusum</i>	614
VIII. Diskussion der Ergebnisse	615
Zusammenfassung	620
Literatur	622

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

** Die Arbeit wurde zum Teil mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

I. Einleitung

In einer Zeitspanne von 50 Jahren hat die Symbioseforschung ein solch umfassendes Bild von dem Vorkommen intrazellulärer Symbiosen bei den Insekten geliefert, daß es durch weitere Untersuchungen in dieser Richtung lediglich im bestehenden Rahmen vertieft werden kann. Daneben machte sich sehr bald die Tendenz zur experimentellen Symbioseforschung bemerkbar, eingeleitet durch die richtunggebenden Versuche von ASCHNER, KOCH und RIES. Das Bestreben ging vor allem dahin, jene Hypothese einer experimentellen Prüfung zu unterziehen und ihre Richtigkeit zu beweisen, welche sagt, daß das Bündnis zwischen Tier und Pflanze zum Nutzen eines jeden Partners gereicht. Sie hat sich unmittelbar aus den Ergebnissen der beschreibenden Phase der Symbioseforschung ergeben und beruht vor allem auf dem regelmäßigen Vorkommen der pflanzlichen Einmieter innerhalb einer streng lokalisierten Region des Insektenkörpers sowie auf den zweckmäßigen Übertragungseinrichtungen. Der Nutzen, den die pflanzlichen Gäste aus dem Zusammenleben ziehen, ist offensichtlich, nämlich sichere Wohnstätte und Nahrung. Somit ergibt sich die Kardinalfrage, die jeder experimentellen Symbiosearbeit zugrunde liegt, ob die Einmieter für ihren Wirt in irgendeiner Weise nutzbringend sind. Die weitere Frage, in welcher spezifischen Form der mögliche Nutzeffekt erfolgt, ist bereits sekundärer Natur. Die positive Beantwortung der ersten Frage allein erlaubt uns schon, das Zusammenleben dieser verschiedenartigen Organismen als Symbiosen, wie es die Definition des Wortes in sich schließt, zu kennzeichnen. Die Klärung der zweiten Frage führt zu einer eindeutigen Bestimmung der Substanzen, welche die Symbionten dem physiologischen Gesamthaushalt des Wirtes zur Verfügung stellen.

In der Folge haben sich 2 Wege herauskristallisiert, die zur Lösung dieses Problems führen können. Zunächst Auflösung der Lebensgemeinschaft und Untersuchungen am Verhalten solcher ohne Mikroorganismen lebender Tiere oder die in das bakteriologische Arbeitsgebiet führende Methode der Kultivierung isolierter Symbionten *in vitro*. Wie die bisherigen Ergebnisse zeigen, führen beide Wege zum Erfolg, und die recht zahlreichen schon vorhandenen Untersuchungen lassen erkennen, daß die Annahme der wechselseitigen Förderung der Partner in fast allen untersuchten Fällen zu Recht besteht. Dennoch ist es nicht zulässig, die Ergebnisse zu verallgemeinern und auf andere Vertreter der Insekten zu übertragen. Es zeigte sich vielmehr, daß jeder einzelne Fall einer gesonderten Prüfung unterzogen werden muß, da Art der Mikroorganismen und physiologischer Bedarf des Wirtstieres innerhalb der verschiedenen Insektenarten nicht gleich sind.

Die bereits durchgeführten experimentellen Arbeiten umfassen Vertreter der verschiedensten Gruppen von Symbiontenträgern mit Aus-

nahme einer der umfangreichsten Abteilungen, der Curculioniden, von denen BUCHNER 1930 schon gesagt hat, daß sie zu einem der interessantesten Kapitel der Symbioseforschung zu werden versprechen. Daher lag es nahe, einen Vertreter gerade dieser Gruppe einer experimentellen Arbeit zu unterziehen.

Die Wahl des eigentlichen Versuchsobjektes unterlag vor allem praktischen Gesichtspunkten, wie sie leichte Züchtbarkeit und Unabhängigkeit vom saisonbedingten Auftreten darstellen. Tiere, die diese Eigenschaften in idealer Weise verkörpern, sind unter den Rüsselkäfern auf die Gattung *Calandra* beschränkt, und es verblieb zunächst nur der wegen seiner großen Schadwirkung an allen möglichen Cerealien gefürchtete Kornkäfer, *Calandra granaria* L., der in unseren Zonen all-gemeine Verbreitung besitzt. Im Verlauf der Arbeit erschien es zweckmäßig, auch den nächsten Verwandten, den Reiskäfer, *Calandra oryzae* L., in die Untersuchungen mit einzubeziehen. Diese günstigen Voraussetzungen ließen die Versuche zeitlich unabhängig werden und ergaben die Möglichkeit zu eingehenden Untersuchungen am Kornkäfer, *Calandra granaria* L., und dem Reiskäfer, *Calandra oryzae* L.

Herrn Prof. Dr. ANTON KOCH danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für die stete Hilfsbereitschaft und das rege Interesse am Fortgang der Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. KARL VON FRISCH, Vorstand des Zoologischen Instituts, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die gewährten Unterstützungen.

Die Entwicklung der Hauptfragen, die in dieser Arbeit geklärt werden sollten, geschieht am einfachsten an Hand der bereits an diesen Objekten durchgeführten Arbeiten. Daher sei ein kurzer geschichtlicher Abriß an den Anfang gestellt.

II. Geschichtlicher Überblick und Problemstellung

Erstmals kam der ägyptische Zoologe MANSOUR mit der *Calandra*-Symbiose in Berührung, und zwar zwangsläufig, als er im Rahmen einer Arbeit über die Entwicklung des larvalen und imaginalen Mitteldarmes beim Reiskäfer, *Calandra oryzae*, die inneren Bauverhältnisse des Tieres näher studierte (MANSOUR 1927). Er beobachtete sowohl das umfangreiche Mycetom in den Larven als auch die Bakteriocyten in den Darmzotten der adulten Tiere, ohne aber die wahre Natur der auffälligen Organbildungen zu erkennen. Aus diesem Grunde erhielt der larvale Zellkomplex den wenig treffenden Namen „accessory cell-mass“. Eine weitere Arbeit über das nämliche Objekt erschien noch im gleichen Jahr von U. PIERANTONI (1927). Sie befaßt sich ausschließlich mit den symbiontischen Einrichtungen von *C. oryzae* und zeigt, daß die „akzessorische Zellmasse“ MANSOURS ein typisches Mycetom ist, das bei diesem Tier paarig ausgebildet sei. Hinsichtlich der Übertragung kam PIERANTONI

zu einer ungewohnten und ganz neuartigen Auffassung, daß die Symbionten bei *Calandra* durch das männliche Geschlecht weitergegeben werden. Sie sollen bei der Kopulation zusammen mit dem Sperma in den weiblichen Geschlechtsapparat gelangen und dort die Eiinfektion verursachen. Das veranlaßte MANSOUR später (1930), sich ebenfalls mit den intrazellularen Symbionten zu beschäftigen. Er pflichtete der Meinung PIERANTONIS nicht nur bei, sondern fügte in verschiedener Hinsicht auch neue Erkenntnisse hinzu, kam allerdings in einigen Punkten auch zu abweichenden Ergebnissen. Zunächst bestritt er die paarige Ausbildung des Mycetoms und erkannte ferner in den Ovariolenendkammern der weiblichen Tiere die Bakterienreservoirs, aus denen Infektionsmassen in die reifenden Eier einwandern. Bemerkenswert ist seine Beobachtung, daß im Gegensatz zur Larvalentwicklung die Symbionten sich während des imaginalen Stadiums sehr aktiv verhalten. Sie treten in größeren Massen aus den Darmzotten in ihr Lumen sowie in den Mitteldarm über, infizieren von hier Darmzellen, vermehren sich und finden nach MANSOURS Auffassung auch im Darminhalt einen guten Nährboden zur Vermehrung. Diese offenbar ungezügelter Zunahme der Mikroorganismen scheint einer vollkommenen Beherrschung der Einmieter durch den Wirt — ein allgemeines Kennzeichen symbiontischer Bündnisse — zu widersprechen.

In der Zwischenzeit hatte sich auch P. BUCHNER (1930, 1933) in umfassenden vergleichenden Arbeiten über die Rüsselkäfersymbiosen mit den *Calandra*-Arten eingehend befaßt. Es ergab sich zunächst die wohl wichtigste Tatsache, daß die symbiontischen Einrichtungen bei *C. granaria* und *C. oryzae* vollkommen übereinstimmen. Ferner konnten Einzelheiten des symbiontischen Ablaufs bei Larven und Imagines festgestellt, Bau und Gestalt des Larvalmyetoms präzisiert werden. Dabei stimmt BUCHNER mit MANSOUR überein, daß das Bakterienorgan der Larve nur in der Einzahl vorhanden ist.

Zur gleichen Zeit untersuchte auch TARSIA IN CURIA (1933) die symbiontischen Einrichtungen von *C. oryzae*. Die Verfasserin berichtet von Symbiontenwanderungen in den erwachsenen Tieren und deutet diese dahin, daß die Bakterien aus dem imaginalen Mitteldarm in die Geschlechtsorgane der Weibchen wandern und dort zur Infektion der Eier dienen.

W. SCHEINERT (1933) konnte in exakten Untersuchungen über Symbiose und Embryonalentwicklung bei den Curculioniden, und damit auch bei *Calandra*, die Herkunft der Symbionten in den Germarien der Ovariolen klären. Unbeantwortet aber blieb die Frage nach der Ursache und dem Wesen der Bakterienwanderung im adulten Tier.

Als MANSOUR (1934) in der Folge seine Untersuchungen auch auf den in Ägypten vorkommenden Kornkäfer ausdehnte, machte er eine

bedeutsame Entdeckung. Im Gegensatz zu allen bisherigen Untersuchern stellte er fest, daß das Larvalmycetom dieser Population im Vergleich zu *C. oryzae* nur eine geringe Größe besitzt und, wie die Mitteldarmblindsäcke der Imagines, von symbiontischen Bakterien völlig frei ist. Diese Feststellung konnte KOCH (1936) an Material gleicher Herkunft bestätigen. Sie erwies sich im weiteren Verlauf für die gesamte Population des ägyptischen Raumes als zutreffend (MANSOUR 1935), die sich auch in morphologischer Hinsicht von unseren einheimischen Calandren unterscheidet und nach F. ZACHER (1934) eine besondere Lokalrasse darstellt: *C. granaria* var. *africana* M. Die Reproduktion der sterilen Mycetome läßt den Schluß zu, daß diese Rasse einst ebenfalls zu den Symbiontenträgern gezählt hat, den Bakterienbestand sekundär wieder verlor, und zwar, wie A. KOCH (1936) auf Grund seiner Erfahrungen mit *Oryzaephilus surinamensis* L. vermutet, infolge der höheren Durchschnittstemperaturen im ägyptischen Raum.

A. J. MUSGRAVE u. J. J. MILLER (1951) können für sich beanspruchen, als erste das Nutzproblem bei *Calandra* in Angriff genommen zu haben. Leider gingen sie von falschen Voraussetzungen aus und kamen daher zu Ergebnissen, die noch keinerlei Rückschlüsse auf die Lebensnotwendigkeit der Bakterien zulassen. Sie glaubten nämlich, daß *C. granaria* von Natur aus symbiontenfrei sei und hofften, durch Verwendung von Getreidekörnern, die mit Terramycin getränkt waren, die Symbionten bei *C. oryzae* abtöten zu können. Beim Vergleich der beiden in gleicher Weise behandelten Arten sollte aus der sich dabei ergebenden Sterblichkeit die Bedeutung der Mikroorganismen für die Reiskäfer bewiesen werden. Zunächst steht der Beweis aus, daß das verwendete Kornkäfermaterial tatsächlich symbiontenfrei gewesen ist, was unseres Wissens bisher nur für die ägyptische Varietät zutrifft, ferner der histologische Nachweis, daß durch die Verwendung des Antibiotikums der Symbiontenbestand tatsächlich geschädigt worden ist.

Somit ergeben sich für meine Arbeit folgende Aufgaben:

1. Abschließende Untersuchungen über Entwicklung und Gestalt des larvalen Mycetoms beider *Calandra*-Arten.

2. Die Klärung von Ursache und Bedeutung der Bakterienwanderungen in den erwachsenen Tieren.

3. Feststellung der Ursachen, die vermutlich bei *C. granaria* var. *africana* zum Verlust der Symbionten geführt haben, bzw. Ausarbeitung einiger Methoden, welche mit Sicherheit zu sterilen Tieren der Gattung *Calandra* führen.

4. Versuche über die physiologische Leistungsfähigkeit der Symbionten, da durch die Lebensfähigkeit der sterilen *Calandra*-Rasse in Ägypten ein Nutzeffekt der Bakterien in Frage gestellt zu sein scheint.

III. Material und Methoden

1. Zur Biologie von *C. granaria* und *C. oryzae*

Der Kornkäfer tritt bei uns als sehr gefürchteter Getreideschädling auf, der infolge seiner starken Vermehrung die verschiedensten Getreidearten in kurzer Zeit empfindlich zu schädigen vermag. Die Entwicklung vom Ei bis zum fertigen Käfer verläuft bei beiden Arten in folgender Weise: Ein Weibchen bohrt zur Eiablage mit dem Rüssel ein gesundes Getreidekorn an, macht eine kleine Höhle und legt das Ei mit Hilfe des Ovipositors ab. Die Einstichöffnung verschließt es mit einem Vaginalsekret, das zu einem festen Pfropf erhärtet. Nach etwa 6 Tagen schlüpft aus dem Ei eine kleine fußlose Larve, die sich von dem Inhalt des Kornes ernährt und rasch heranwächst. Bei 28° C ist die Larve nach rund 20 Tagen verpuppungsreif, und die Metamorphose zur Imago erfolgt ebenfalls im Korn. Nach der sog. Überliegezeit durchbohrt der Käfer die Samenschale und kriecht ins Freie. Das weitere Leben spielt sich außerhalb des Kornes ab.

Durch die Anpassung an verschiedene Temperaturbereiche ist das Auftreten der Tiere bestimmt. Der Kornkäfer ist ein Bewohner der gemäßigten Zonen, während der Reiskäfer in tropischen und subtropischen Gebieten beheimatet ist. Durch den ausgedehnten Getreidehandel wird *C. oryzae* auch in unseren Breiten eingeschleppt, kann sich aber unter normalen Lagerbedingungen nicht halten, wenn im Jahresverlauf die mittlere Temperatur eines Monats unter +3° C liegt, die das Minimum für die Entwicklung darstellt. Ergeben sich für den Reiskäfer die Verbreitungsgrenzen aus den niederen Temperaturen, so ist es umgekehrt die hohe Temperatur, die den Lebensraum des Kornkäfers bestimmt. *C. granaria* bleibt an Bedeutung hinter *C. oryzae* zurück, wenn im Jahresverlauf ein Monatsmittel 25° C übersteigt.

Für weitere Informationen sei auf die Spezialliteratur verwiesen: K. TH. ANDERSEN (1934, 1935), BACK u. COTTON (1920, 1924), F. S. BODENHEIMER (1927, 1930), K. MÜLLER (1928), J. PAVLAKOS (1931), E. TEICHMANN u. A. ANDRES (1920), F. ZACHER (1925, 1927, 1933, 1938 a, b).

2. Haltung und Züchtung

Zu Beginn der Untersuchungen stand mir eine reichhaltige Kultur von *C. oryzae* L., aus einem oberpfälzischen Lagerhaus stammend¹ und auf Milokorn (*Sorghum spec.*) lebend, zur Verfügung, ferner eine Kultur von *C. granaria* L., die ich selbst in einem landwirtschaftlichen Kleinbetrieb in Unterfranken gesammelt habe. Eine zweite Kultur dieser Art verdanke ich der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Kiel², die dort seit Jahren im Laboratorium

¹ Das Material besorgte mein Kollege, Herr Dr. HUGER, dem ich für seine Bemühungen herzlich danke.

² Herrn Dr. FREY, Biologische Bundesanstalt Kiel, möchte ich an dieser Stelle für die Übersendung der reichhaltigen Kultur danken.

auf Weizen gezüchtet wurde. Im Verlauf der Arbeit ergab sich die Notwendigkeit, Tiermaterial der genannten Arten auch aus anderen Ländern zu beschaffen. Trotz der begreiflichen Schwierigkeiten, welche die Zollstellen dem Versand der Schädlinge entgegenbringen, war es möglich, wenigstens einige zusätzliche Kulturen zu besorgen.

Die vielfältige Literatur, die sich mit der Biologie des Kornkäfers befaßt, kam bei der Wahl der Methoden zur Haltung und Züchtung der Insekten sehr zugute.

Die Versuchstiere wurden in sog. Tablettengläsern von 7,5 cm Höhe und 2,5 cm Durchmesser im Thermostaten meist bei 28° C und 70—85% RH gehalten, wenn nicht für besondere Versuche absichtlich eine andere Temperatur und Hydratur gewählt worden war. Als Nahrungsmittel erhielten die Tiere am Anfang die gleichen Getreidearten, die ihnen in ihrem natürlichen Milieu zur Verfügung gestanden waren. Später wurden die Kulturen des Kornkäfers auf entspelzten Hafer übergeführt. Größte Aufmerksamkeit wurde darauf verwendet, daß keinerlei Vermischung von Tieren verschiedener Herkunftsorte eintreten konnte.

3. Die histologische Technik

Die morphologischen Untersuchungen wurden teils an frischem Material mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops teils an Ausstrichen oder Serienschnitten durch Larven, Puppen und Imagines angestellt. Zur Gewinnung geeigneter Larvenstadien mußten stets zahlreiche Getreidekörner mit Pinzette und Lanzettadel unter dem Binokular aufpräpariert werden, wobei sich zeigte, daß die anfangs benützten Getreidearten wegen zu großer Härte höchst ungünstig waren. Diese Schwierigkeit ließ sich leicht beseitigen. Lebten die Tiere auf geschältem Hafer¹, der eine wesentlich geringere Konsistenz besitzt, dann befanden sich Eier und Larven in diesen Körnern und konnten mühelos und ohne Schaden herauspräpariert werden. Aus diesem Grunde wurden fast alle Versuche mit geschältem Hafer ausgeführt und der Einheitlichkeit halber auch die Stammkulturen von *C. granaria* auf diese Getreideart übergeführt. Bei *C. oryzae* zeigte sich bald an der geringen Vermehrungsrate, daß dieser Art die Haferkörner weniger zuträglich sind. Deshalb wurden hier die Stammkulturen mit Milokorn weitergeführt, und der geschälte Hafer kam nur für solche Versuche zur Anwendung, die eine häufige Präparation von Körnern erforderten.

Zur Fixierung von Larven und Imagines leistete das Gemisch nach BOUIN (s. ROMEIS 1948, § 305) gute Dienste. Zum besseren Eindringen der Fixierungsflüssigkeit genügte bei den Larven ein zweimaliges Anstechen auf jeder Seite. Da bei den Imagines der harte Chitinpanzer beim Schneiden äußerst hinderlich ist, wurden jeweils Darm und Geschlechtsorgane der zu untersuchenden Tiere in physiologischer Kochsalzlösung herauspräpariert. Zur vollständigen Fixierung genügte bei den Larven ein 8—10stündiges, bei den imaginalen Därmen ein 15—20 min langes Verweilen. Die Schnittdicke bei Larven und Imagines betrug 5—6 μ .

Zur Tingierung der Schnitte kamen verschiedene Farblösungen zur Anwendung. Für Übersichtsbilder eignete sich ganz vorzüglich das saure Hämalaun nach P. MAYER und 0,1%ige Eosin- bzw. Erythrosinlösung zur Färbung des Plasmas. Damit konnten auch sehr klare Bakterienfärbungen in Schnitten erzielt werden, ebenso durch die Tingierung mit Toluidinblau, da durch die auftretende Metachromasie mehrere Farbabstufungen in das Präparat kamen. Zur Darstellung feinerer Strukturen war Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN jedoch unüber-

¹ Handelsüblicher Name für entspelzten Hafer.

Zur Untersuchung der Bakterienmorphologie wurden zahlreiche Ausstriche der Symbionten aus den larvalen Mycetomen, den imaginalen Därmen und vor allem aus den Germanien der Ovariolen hergestellt. Die Färbung der Ausstriche erfolgte mit LÖFFLERS Methylenblau, Diamantfuchsin, Karbolfuchsin. Ganz vorzügliche Bilder lieferte das Karbolgentianaviolett, wie es zur Gramfärbung verwendet wird.

4. Der symbiontische Zyklus

Die bedeutsamsten Vorgänge, die für das ganze spätere Geschehen richtunggebend sind, fallen in die Zeit der Embryonalentwicklung. Zwei Vorgänge verlaufen hier parallel, die einmal durch die Besiedelung des Mycetoms das Individuum selbst mit Symbionten versehen, zum anderen durch die Infektion der Urgeschlechtszellen — eine Erscheinung, die mit Ausnahme der Cleoninen für die ganze Gruppe der Rüsselkäfer typisch ist — die Erhaltung der Symbionten für die Art sichern. Die Bakterien, welche als kettenbildende Formen und Kurzstäbchen vorliegen, verteilen sich im abgelegten Ei gleichmäßig über den gesamten Dotter. Im Verlauf der Blastodermbildung wölbt sich das Keimhautblastem am hinteren Eipol knospenartig vor, zieht dabei Dotterschollen mit dazwischenliegenden Bakterien hinein und nach der späteren Abschnürung sehen wir in diesen Zellen die infizierten Urgeschlechtszellen. Ihr Bakterienmaterial verhält sich während der ganzen Entwicklung bis zum geschlechtsreifen Tier indifferent. Der Aufbau des Larvalmycetoms geschieht, indem von der ektodermalen Stomodaeumspitze Zellen abgegeben werden, die in den Dotter sinken und sich mit Bakterien beladen. Die nun vorhandenen Bakteriocyten, welche eine deutliche Zellmembran besitzen, wandern kopfwärts und ordnen sich zum Mycetom. Durch Zellvermehrung während der Larvalentwicklung erfährt das Mycetom eine Größenzunahme. Die durchgreifendste Umgestaltung zeigt das Bakterienorgan während der Puppenruhe. Das kompakte Organ wird aufgelöst, und die Teile kommen an andere Stellen zu liegen. Die Bezeichnung, die SCHEINERT (1933) für diesen Vorgang gewählt hat, daß bei der Metamorphose eine „Einschmelzung“ des Organs erfolgt (S. 110), scheint mir nicht ganz glücklich zu sein, da dies einer totalen Rückbildung gleichkäme. Der tatsächliche Vorgang besteht aber lediglich in einer Verlagerung, da die Bakteriocyten in den sich neu bildenden Mitteldarm einwandern und in die Endabschnitte großer, nach außen ragender Darmzotten zu liegen kommen. Weiter vermerkt SCHEINERT, daß in älteren Tieren Bakterien nur ganz vereinzelt zu finden sind.

IV. Morphologische und anatomische Untersuchungen

1. *Calandra granaria* L. und *Calandra oryzae* L., ein Vergleich

Beide *Calandra*-Arten zeigen trotz der nahen Verwandtschaft eine Reihe von auffälligen, äußeren morphologischen Unterschieden, welche Größe, Zeichnung und Färbung betreffen, auf Grund deren eine sichere

Ansprache der Arten möglich ist. Im Laufe meiner Arbeit befaßte ich mich ebenfalls mit den Besonderheiten der genannten Arten und fand hierbei einige charakteristische, stets auftretende Züge, die zusammen mit den äußeren Bestimmungsmerkmalen (REITTER 1911, WEIDNER 1937) die berechnigte Feststellung erlauben, daß *C. granaria* und *C. oryzae* streng geschiedene Arten verkörpern.

Am auffälligsten sind wohl bei beiden Arten die Größenunterschiede der Hinterflügel. Während bei *C. oryzae* (Abb. 1a) die Hinterflügel wohl ausgebildet sind, von kräftigen Adern gestützt werden und einen behaarten Hinterrand besitzen, stellen die Hautflügel von *C. granaria* (Abb. 1b) im Hinblick auf Fläche und Strukturierung mit Adern nur mehr kärgliche Rudimente dar. Wie die normal gebauten Flügel des Reiskäfers werden aber auch diese Rudimente noch stets gefaltet, ein Zeichen, daß dieser Rest die gesamte morphologische Einheit des Hautflügels darstellt. Während *C. granaria* infolge der stark rückgebildeten Alae zur Flugunfähigkeit verurteilt ist, macht *C. oryzae* von seinem Flugvermögen noch ständig Gebrauch. Aus diesem Grunde wird der Reiskäfer in seinen Heimatländern noch mehr gefürchtet, da er das Getreide bereits auf den Feldern befällt und seine Eier in die halbreifen Körner ablegt.

Ein weiteres Merkmal ist für *C. granaria* charakteristisch und hängt mit dem Verlust der Flugfähigkeit eng zusammen. In der Mittellinie sind die Deckflügel leicht verklebt und lösen sich bei der Präparation meist zusammen vom Körper. Da sie nie entfaltet werden (z. B. wenn das Tier auf dem Rücken liegt) — vermutlich wegen Rückbildung der Muskulatur nicht entfaltet werden können —, unterbleibt eine Pigmentierung der Rückendecke des Abdomens. Sie ist bei *C. granaria* völlig klar und läßt die Hinterleibsorgane durchscheinen, während bei *C. oryzae* die Rückendecke pigmentiert ist und wie der übrige Chitinpanzer eine rotbraune Färbung zeigt.

Die Arteigentümlichkeiten beschränken sich nicht nur auf äußere Merkmale, auch im inneren Bau sind typische Unterschiede vorhanden. Der larvale Mitteldarm von *C. oryzae* wird von großen, polymorphen, stark vakuolisierten Zellen aufgebaut, deren Zellgrenzen häufig nur schlecht erkennbar sind (Abb. 2a). Die Kerne der Mitteldarmzellen sind mittel- oder wandständig. Die Muskularis ist schwach und enthält kleine plattgedrückte Kerne. Bei *C. granaria* besteht der Mitteldarm

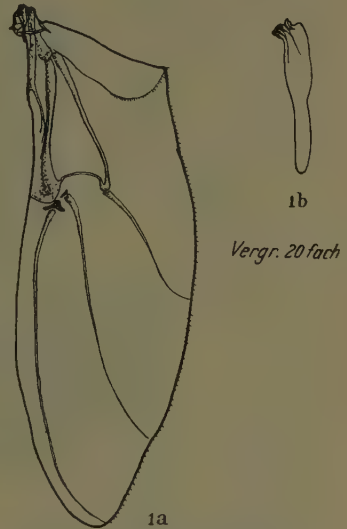


Abb. 1a u. b. a Hinterflügel von *C. oryzae* L. b Hinterflügel von *C. granaria* L.

der Larven aus Zylinderepithel. Das Plasma der schlanken Zellen ist dicht und färbt sich mit Eisenhämatoxylin kräftig an. Die großen, chromatinreichen Kerne liegen fast stets in der Mitte der Zellen (Abb. 2 b). Der Bürstchenbesatz ist gut ausgebildet und durchgehend. Bemerkenswert ist auch die große Zahl der Kryptenzellen in allen Stadien der Entwicklung. Diese Besonderheiten der Zellformen erstrecken sich nicht nur auf die Mitteldarmzellen, sondern auch auf die Struktur der Mycetome, die künstlich steril gemacht werden konnten (S. 587). In den



Abb. 2a u. b. a *C. oryzae*. b *C. granaria*; Ausschnitt aus dem larvalen Mitteldarm

Imagines sind die Unterschiede nicht mehr so ausgeprägt, da die Form der Mitteldarmzellen beider Arten etwa in der Mitte zwischen den Extremen der Larvenstadien liegt. Bei *C. granaria* sind die Zellen vor allem in dem Teil, der dem Darmlumen zugekehrt ist, reicher an Vakuolen. Bei *C. oryzae* nehmen die Mitteldarmzellen in den Imagines eine schlankere Gestalt an und zeigen nicht mehr die umfangreichen Vakuolen.

Hinsichtlich ihrer symbiontischen Einrichtungen stimmen dagegen *C. granaria* und *C. oryzae* vollkommen überein. Mit Recht läßt sich daraus schließen, daß der Erwerb der symbiontischen Bakterien bereits in die Zeit vor der Aufspaltung der Gattung in die Arten fällt.

2. Das larvale Bakterienorgan

Das Mycetom der *Calandra*-Arten steht im Hinblick auf die Form, wie sie bei den übrigen Rüsselkäfern verwirklicht ist, etwas abseits, verkörpert aber einen Bau, der für diese Gattung bezeichnend ist und die unterschiedliche Auffassung der Autoren bedingte.

Das voluminöse Bakterienorgan hat bei beiden Arten U-förmige Gestalt. Seine Teile werden im weiteren Verlauf „Schenkel“ und „Mittelstück“ genannt. Die Schenkel stellen umfangreiche Gebilde dar, welche die Hauptmasse des Mycetoms ausmachen. Sie sind schräg nach vorn und dorsal gerichtet, liegen dem Mitteldarm dicht an, so daß sie leicht gekrümmt erscheinen. Auf der Ventralseite können sie sich bis unter die Körperdecke ausdehnen (Abb. 3b). Infolge der Schräglage der seitlichen Anhänge entstehen bei querer Schnittführung Bilder, die zu



Abb. 3a u. b. *C. granaria*: Sagittalschnitt durch das Vorderende einer Larve mit dem Schenkel (b) und dem Mittelstück (a) des Mycetoms. — Abkürzungen: M Mycetom; Md Mitteldarm; Ns Nervensystem; Pr Proventriculus; V Valvula cardiaca

beiden Seiten des Kaumagens zwei unabhängige Mycetomteile vorstellen und bei einer unvollständigen Durchmusterung der Präparate eine paarige Anlage vortäuschen. Zwischen Darm und Bauchmark befindet sich das Mittelstück des Mycetoms, dessen Gestalt durch die angrenzenden Organe bestimmt wird (Abb. 3a). BUCHNER und SCHEINERT erkannten bereits, daß das Mycetom keine einheitliche Masse darstellt, sondern seitlich in zwei „Zipfel“ ausgezogen ist. Im Hinblick auf den Umfang der seitlichen Anhänge dürfte dieser Ausdruck den Sachverhalt nicht ganz treffen.

Am Ende der Embryonalentwicklung ist das Mycetom noch völlig einheitlich gestaltet und zeigt noch nicht einmal eine Einsattelung (SCHEINERT 1933). Im Verlauf der weiteren Entwicklung setzen jene formgebenden Prozesse ein, durch welche die Bakterienwohnstätte ihre typische Gestalt erhält. Bereits auf dem Stadium der ersten Häutung ist die spätere Form schon deutlich ausgeprägt. Die Proportionen entsprechen jedoch nicht denen der alten Larven, da die Schenkel noch

völlig unbedeutend sind. Die Volumenzunahme vollzieht sich in der Folge vor allem im Mittelstück, das dann auf Sagittalschnitten beinahe quadratisch erscheint, während es vorher 3—5mal länger war als breit. Mitosen wurden in den stets einkernigen Bakteriocyten nicht beobachtet.

Als Besonderheit sei für *C. oryzae* eine verpuppungsreife Larve erwähnt, bei der die Schenkel des Mycetoms den Proventriculus auf der Dorsalseite vollständig umfaßten, so daß es zu einem Ringschluß kam (Abb. 4).

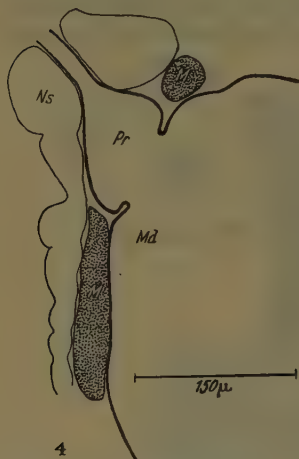


Abb. 4. *C. oryzae*: Ringförmiges Mycetom einer verpuppungsreifen Larve (Schema)

Wie P. BUCHNER an Larven von *C. granaria* feststellen konnte, schließen beiderseits am Mycetom zellige Stränge an, welche den Anfangsdarm umgreifen und sich dorsal vereinigen. MANSOUR und PIERANTONI, die ihre Untersuchungen an *C. oryzae* durchgeführt haben, erwähnen eine solche Einrichtung nicht. Es lag die Frage nahe, ob bei dieser Art kein Aufhängeband ausgebildet wird oder, ob es lediglich der Aufmerksamkeit der Untersucher entgangen ist. An Hand einer frontal geführten Schnittserie durch eine Pronympe konnte ich auch bei *C. oryzae* dieses Aufhängeband nachweisen. Für *C. oryzae* ist somit Abb. 16 bei BUCHNER (1933, S. 732) ebenfalls zutreffend, von der sich mein

Präparat lediglich dadurch unterscheidet, daß Mycetom und Aufhängeband dem Darm dicht aufliegen.

Diese Untersuchungen an normal besiedelten Larven erbrachten für *C. oryzae* eine überraschende Tatsache. Mehrere Larven dieser Art besaßen an Stelle des voluminösen Mycetoms nur eine kleine Zellmasse von länglicher Gestalt, die leicht übersehen werden konnte. Diese Mycetome waren *völlig steril* (Abb. 5).

Der erstmalige Nachweis des Vorkommens symbiontenfreier Tiere bei *C. oryzae* stellt eine Parallele zu den Beobachtungen MANSOURS an *C. granaria* dar. Unwillkürlich erhebt sich die Frage nach den Ursachen der Sterilität. Denkbar wäre, daß mit zunehmendem Alter sich der Bakterienbestand in den Germarien erschöpft und die Eier sehr alter Weibchen keine Symbionten mehr erhalten oder, daß öfter Fehlinfektionen eintreten, durch welche die Nachkommen steril bleiben. Ebenso kann ein von außen wirkender Faktor angenommen werden, der einen schädigenden Einfluß auf den Symbiontenbestand ausgeübt hat. Es wäre an einen Temperaturfaktor zu denken, aber für den Reiskäfer als Bewohner tropischer und subtropischer Gebiete erscheint das nicht so wahrscheinlich.

Diese Beobachtung gab den Anlaß, zunächst aus der Mischkultur die sterilen Tiere auszulesen und für spätere physiologische Untersuchungen weiterzuzüchten. Weiter war festzustellen, ob sterile Käfer auch in Kulturen von anderen Herkunftsorten vorkommen, vor allem in Populationen aus südlichen Zonen. Da eindeutige Aussagen über Infektion bzw. Sterilität von Tieren nur auf Grund von Schnittpreparaten gemacht werden können, ferner die symbiontenfreien Tiere erhalten bleiben sollten, ergaben sich langwierige Untersuchungen, die in folgender Weise ausgeführt wurden: Je 1 Männchen und Weibchen¹ aus jener Kultur, welche die sterilen Käfer enthielt, wurden in Glastuben gegeben, die zur Hälfte mit geschältem Hafer gefüllt waren. Von den sich entwickelnden Nachkommen wurden je 2 Larven fixiert und geschnitten. In 2 Serien gelangte die F₁-Generation von insgesamt 105 Einzelpaaren zur Prüfung.

Im ganzen waren es nur 2 Weibchen, welche sterile Nachkommen hervorbrachten. Von diesen ging leider schon während des Versuchs eines ein, und auch das zweite starb nach einiger Zeit ohne ersichtlichen Grund. Auch das Wachstum der F₁-Tiere vollzog sich sehr schleppend; viele gingen vorzeitig ein, und die wenigen Imagines, welche zur Metamorphose gekommen waren, starben bald. Erst später ergaben ausführliche Untersuchungen, daß die Todesursache in engstem Zusammenhang mit dem Nutzeffekt der Symbionten stand.

Die Beobachtung MANSOURs über das Fehlen symbiontischer Mikroorganismen bei der ägyptischen Rasse von *C. granaria* sowie seine weitere

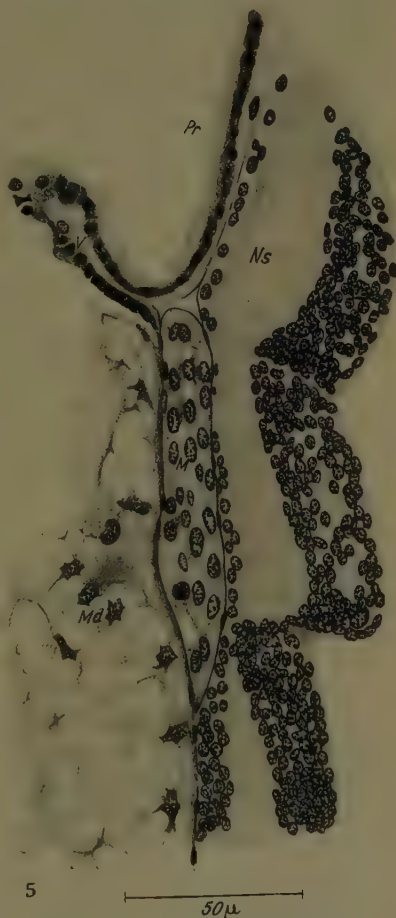


Abb. 5. *C. oryzae*: Steriles Mycetom einer Larve zwischen Darm und Nervensystem

¹ Die Unterscheidung der Geschlechter ist infolge der unterschiedlichen Ausbildung des Rüssels bei den *Calandra*-Arten leicht möglich. Bei den Weibchen ist er lang und schmal, während der Rüssel bei den Männchen eine kurze gedrungene Form besitzt.

Feststellung, daß die Population der gleichen Art aus dem Raum von Plymouth (England) sich durch eine außerordentlich geringe Besiedelung des Mycetoms auszeichnet, legten zusammen mit meinen eigenen Befunden über das Vorkommen steriler Tiere bei *C. oryzae* die Vermutung nahe, daß das symbiontische Bündnis bei *Calandra* höchst labil ist. Daher schien eine vergleichende Untersuchung an Tieren verschiedener Herkunft angebracht. Wenn diese nur fragmentarischen Charakter besitzt, so ist das auf die großen Schwierigkeiten zurückzuführen, welche sich der Beschaffung von ausländischem Käfermaterial entgegenstellen. Da es mir in der Zwischenzeit möglich war, eine weitere Kultur von *C. granaria* aus einer Münchener Brauerei zu besorgen, boten diese Tiere zusammen mit der Kultur aus Kiel und meinem unterfränkischen Stamm im Hinblick auf die Bundesrepublik einen guten Querschnitt. Einem besonders günstigen Umstand verdanke ich reichhaltiges Käfermaterial aus der Türkei¹, und durch die Vermittlung von A. KOCH war es möglich, ägyptische Korn- und Reiskäfer aus dem Raum von Kairo² zu beschaffen. Neben dieser aus Ägypten stammenden Kultur von *C. oryzae* stand mit einer unteritalienischen Population³ zur Verfügung, ferner meine eigene Kultur. Wie sich aus der Rücksprache mit einem Getreideimporteur ergeben hat, erfolgten die Einfuhren von Milokorn aus den Südstaaten von Nordamerika, so daß mit größter Wahrscheinlichkeit meine Reiskäferkultur aus diesem Raum stammt. Aus den angeführten Stämmen wurden Nachkommen von je 30 weiblichen Tieren untersucht.

Das Ergebnis war eindeutig: Alle Nachkommen der aus Deutschland stammenden Weibchen zeichneten sich durch das gewohnte umfangreiche Mycetom mit einer normalen Bakterienbesiedelung aus; ebenso wiesen die türkischen Tiere den entsprechenden Symbiontenschatz auf. Ein einheitliches Resultat lieferten auch die Untersuchungen der *C. oryzae*-Stämme aus Ägypten und Italien, die keine abweichenden Bilder erbrachten. Positiver Erfolg blieb allein der aus Ägypten stammenden Kornkäferkultur vorbehalten. Alle Larven besaßen ein steriles Mycetom. Die schematischen Abb. 6a u. b mögen die Größenverhältnisse im Vergleich zu normal besiedelten Mycetomen zum Ausdruck bringen (vgl. Abb. 3a u. b). Infolge der umfangreicheren Außenregionen, die den Schenkeln besiedelter Mycetome entsprechen, zeigen die Organe Anklänge an den ursprünglichen Bau, der offenbar erblich fixiert ist.

¹ Herrn Dr. WOLFGANG SCHICK sei an dieser Stelle für die Beschaffung der Tiere gedankt.

² Herr Prof. Dr. PRIESNER, Kairo, stellte mir diese Tiere zur Verfügung, wofür ich herzlich danke.

³ Herrn Prof. Dr. P. BUCHNER danke ich für die Übersendung der reichhaltigen Kultur.

Die sterilen Bakterienorgane werden von einem Hüllgewebe umschlossen und bergen plasmaarme Zellen mit relativ großen Kernen (Abb. 6 c).

Die Tatsache, daß das Auftreten steriler Tiere bei *C. oryzae* keine allgemein verbreitete Erscheinung bildet, sondern ebenso wie bei *C. granaria* nur für eine bestimmte Population Gültigkeit besitzt, läßt die Ursache nicht in einer Unzulänglichkeit des Übertragungsmechanismus vermuten. Gerade bei den Rüsselkäfern haben ja die symbiontischen Bündnisse zur Ausbildung besonders enger Anpassungen geführt, welche die Gewähr für eine nie versagende Infektion geben. Der Grund ist sicher in Milieüänderungen zu suchen, deren Aufdeckung dem experimentellen Teil dieser Arbeit vorbehalten sein soll.

3. Das Verhalten der Symbionten in den Imagines

Die Auflösung der larvalen Mycetome bildet — von einigen wenigen Ausnahmen abgesehen — ein Charakteristikum der Rüsselkäfersymbiosen. Die Frage nach der Bedeutung dieses Vorganges ist naheliegend, da kein zwingen-

der Grund für die Aufgabe der larvalen Mycetome vorliegt. Die im Anschluß daran sich abspielenden Prozesse geben eine klare Antwort. Mit der Auflösung der Mycetome wird ein Vorgang eingeleitet, der sich über einen längeren Zeitraum erstreckt und die fortschreitende Dezimierung der ehemaligen Mycetomsymbionten bewirkt.

Das lückenlose Erfassen aller Prozesse erforderte Untersuchungen an Tiermaterial, dessen Alter genau bekannt war. Je 120 Käfer von *C. granaria* und *C. oryzae* wurden 3 Tage lang zum Belegen in den Thermostaten gegeben und die belegten Körner unter optimalen Bedingungen gehalten. Beide *Calandra*-Arten zeichnen sich durch eine unterschiedliche Entwicklungsdauer aus. Bei 28° C verlassen die Reis-
käfer die Getreidekörner etwa 8 Tage früher als die Kornkäfer. Das im folgenden angegebene Alter eines Tieres bezieht sich immer auf das Erscheinen außerhalb des Kornes. Die Ausfärbung des Chitinpanzers der Kornkäfer erfolgt in sichtbarer Weise in den nächsten Tagen nach Verlassen der Körner, und zwar vor allem im Thoraxabschnitt, der eine Woche später dunkler ist als die Elytren. Die weitere Pigmentierung bevorzugt die Deckflügel, die 14 Tage nach dem Schlüpfen bereits braunschwarz sind und sich kaum von denen der älteren Tiere

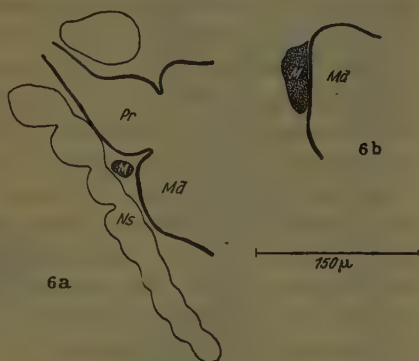


Abb. 6a u. b. *C. granaria* var. *africana*:
Rudimentäres Bakterienorgan bei einer ausgewachsenen Larve. a Mittelstück;
b Schenkelregion

unterscheiden. Etwa 30 Tage nach Verlassen des Kornes zeigen die Tiere eine gleichmäßige Färbung.

In Zeitabständen von 5 Tagen wurden von *C. granaria* und *C. oryzae* — nach Geschlechtern getrennt — Tiere fixiert und geschnitten. Da die männlichen Tiere von *C. oryzae* besonders klare Bilder erbrachten, seien an Hand dieser Präparate die Vorgänge geschildert.

Der Mitteldarm der erwachsenen Käfer ist gleichmäßig von zottenförmigen Anhängen besetzt, die auf Lücke stehen, unmittelbar am Kaumagen die größten Ausmaße erreichen und nach hinten zu an Größe abnehmen. In diesen Ausstülpungen finden wir die Bakteriocyten des larvalen Mycetoms wieder. Die Ausbildung von Darmzotten ist keine Eigentümlichkeit der Gattung *Calandra* und steht vermutlich nicht in ursächlichem Zusammenhang mit der Symbiose. Vertreter anderer Insektengruppen wie *Bromius*- und *Donacia*-Arten, die ebenfalls zu Symbiontenträgern zählen (STAMMER 1935/36), bilden in den Imagines Mitteldarmanhänge aus, von denen bei ersterer Art nur am Anfang und Ende stets vergrößerte Zotten als Bakterienwohnstätten dienen. Bei den letzteren haben die Mikroorganismen ihre Lokalisation in den MALPIGHIEN Gefäßen gefunden, und die Darmzotten stehen in keiner Verbindung mit der Symbiose.

Das Mitteldarmepithel setzt sich in das Epithel einer Zotte fort, wobei in deren Innern ein zentraler Binnenraum entsteht, der von Zellen mit Bürstchenbesatz umschlossen wird und die Ausstülpung etwa zur Hälfte durchzieht. Der weitere sich anschließende Abschnitt wird bei frisch geschlüpften Tieren fast immer vollständig von bakterienführenden Zellen eingenommen (Abb. 7a), oder aber einige wenige Kryptenzellen befinden sich in der Mittelachse. An den Bakteriocyten ist im Vergleich zu ihrem Aussehen im Mycetom eine deutliche Veränderung feststellbar. Mit der Verlagerung ist vor allem bei *C. granaria* ein offenkundiges Wachstum verbunden, da die Zellen in den Zotten einen bedeutend größeren Raum einnehmen. Die Symbiontenmasse ist locker geschichtet, färbt sich mit Eisenhämatoxylin schlecht an, so daß die kettenförmigen Bakterien nur undeutlich zu erkennen sind. Die Bakterienzellen verteilen sich in dem geschilderten Ausmaß vor allem auf die Blindsäcke des vorderen und mittleren Darmabschnittes, die anschließenden Zotten enthalten meist 2—3 Zellen, und die letzten, nur noch kleinen Anhänge bleiben auch bei frisch geschlüpften Tieren völlig steril. Der massive Endabschnitt enthält hier ausschließlich Kryptenzellen.

Dieser Zustand des imaginalen Darmes bleibt nicht lange erhalten. Bereits nach 5 Tagen sind an den Bakterienzellen erste Veränderungen feststellbar. Vor allem in den hintersten Zotten und in den dem Darm-lumen nächsten Bakteriocyten treten Mikroorganismen auf, die sich mit Eisenhämatoxylin tiefschwarz färben. Die Bakterienmasse verdichtet

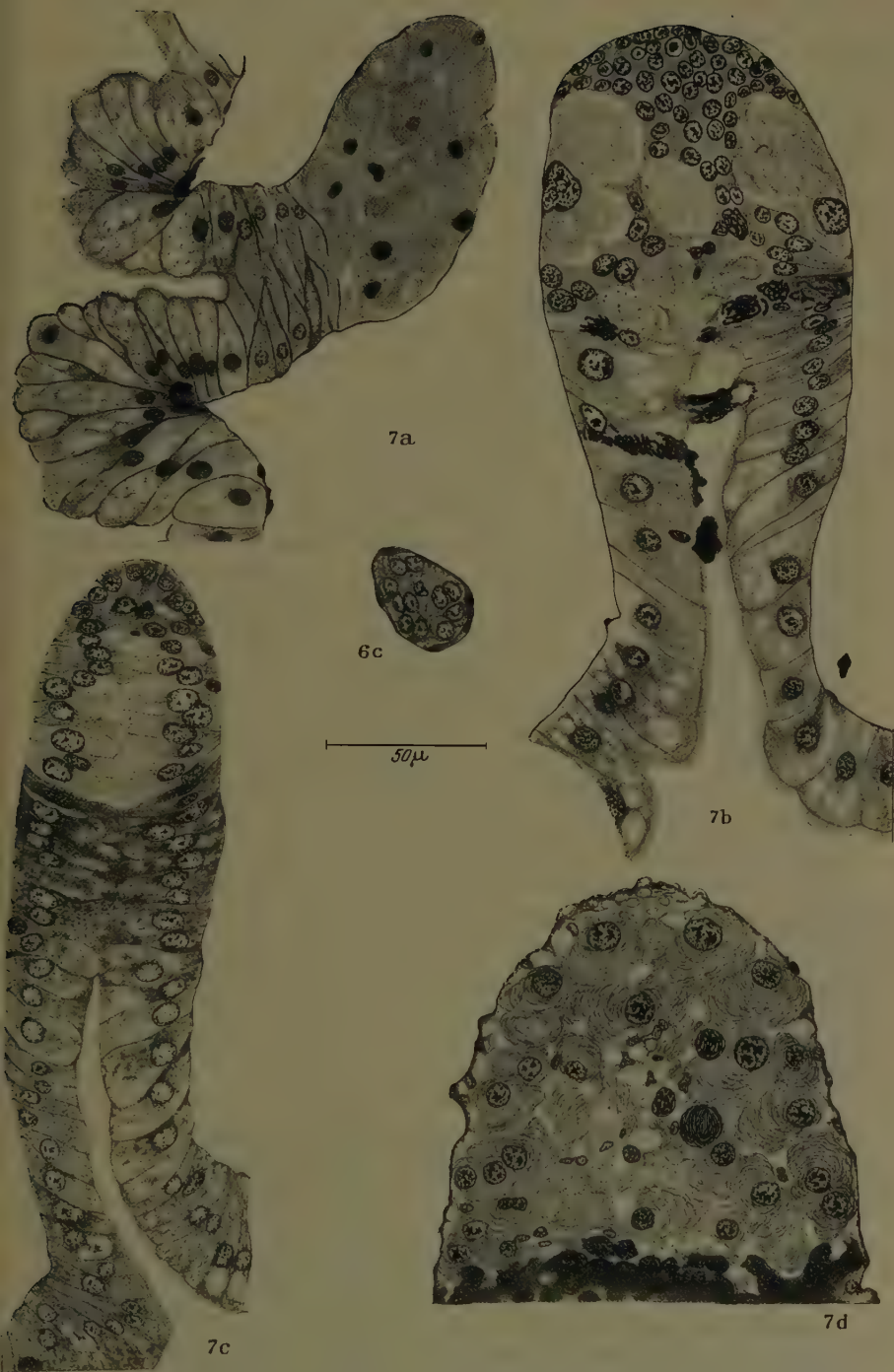


Abb. 6c u. 7a—d. 6c *C. granaria* var. *africana*: Schnitt durch das Mittelstück. 7a *C. oryzae*: Stark infizierte Darmzotte einer soeben geschlüpften männlichen Imago. 7b *C. oryzae*: Darmzotte einer 10 Tage alten männlichen Imago. Fortgeschrittenes Stadium des Symbiontenabbaus. c *C. oryzae*: Sterile Darmzotte eines 30 Tage alten männlichen Tieres.
d *C. granaria*: Ovariolenendkammer eines jungen legereifen Weibchens mit starker Bakterienbesiedelung

sich um den Kern, so daß bei gleicher Zellgröße am Rand eine Zone entsteht, die nicht von Plasma erfüllt ist und völlig klar erscheint.

Die folgenden Prozesse spielen sich in rascher Folge ab, wobei der Bakterienbestand einschneidende Veränderungen erleidet und kein Zweifel besteht, daß das Tier sich seiner Darmsymbionten entledigt. Bereits 10 Tage nach dem Schlüpfen ist der Bakterienabbau in vollem Gang. Die Färbbarkeit der Mikroorganismen hat weiter zugenommen und den ganzen Inhalt einer Bakteriocyte erfaßt. Die Ketten verdicken sich, zeigen Ausbuchtungen, zerfallen in Einzelglieder und verklumpen schließlich zu einer kugeligen Masse, die nur noch einen kleinen Raum einnimmt. Zur gleichen Zeit verändern auch die Kerne ihr Aussehen. Das Chromatin zieht sich auf den Rand zurück, die sich bildende, anfänglich kleine Vakuole gewinnt an Größe und schließlich erfüllt sie den Nukleus bis zur Membran. Die hochgradige Degeneration von Zelle und Kern ist offensichtlich. Der abgekugelte Bakterienschutt wandert gegen das zentrale Lumen der Zotten und wird schließlich ausgestoßen. Zur gleichen Zeit vermehren sich von der Zottenspitze her die Kryptenzellen sehr stark. Sie sind vorerst noch klein und lassen die Zellgrenzen fast nicht erkennen. Abb. 7b zeigt dieses Stadium in eindrucksvoller Weise. Einen gewissen Formwandel der Darmsymbionten konnte bereits MANSOUR beobachten, doch deutete er den Vorgang falsch, wenn er annahm, daß die nun „kokkenförmigen Symbionten“, die ja nichts anderes als degenerierte Bakterien darstellen, Darmzellen infizieren. Vermutlich gab abgekugelter Bakterienschutt, der sich kurz vor dem Ausstoß in den Darm befand, zu dieser Auslegung Anlaß.

Mit fortschreitendem Abbau der Bakteriocyten wird endlich die Sterilität der Darmzotten erreicht (Abb. 7c). Eine genaue Angabe des Tages für den Beginn des Abbaus ist nicht möglich, da er bei den einzelnen Tieren einige Tage früher einsetzen oder auch sich verzögern kann, doch ist er meist 10 Tage nach dem Schlüpfen in vollem Gang und erreicht in kurzer Zeit einen gewissen Abschluß. Mehrere untersuchte Tiere beiderlei Geschlechts zeichneten sich bereits 20 Tage nach Verlassen des Kornes durch einen vollkommen sterilen Mitteldarm aus. Häufig führt der Abbau nicht zu einer restlosen Entfernung der Symbionten, sondern in manchen Darmzotten erhalten sich noch vereinzelt Bakteriocyten, die 30 oder 40 Tage nach dem Schlüpfen noch nachweisbar sind. Der Inhalt dieser Zellen besteht immer aus stark degenerierten Bakterien, die sich in Form von gut färbbaren Kurzstäbchen, punktbis fladenförmigen Gebilden um den Kern verteilen (s. Abb. 10d), der von wenig Plasma umgeben wird. Der übrige, oft umfangreiche Teil der Bakteriocyte ist fast vollkommen leer. In dieser Form vermögen sich die Zellen über längere Zeit zu erhalten. Offenbar ist für den restlosen

Abbau der Bakteriocyten die Schädigung der Kerne von ausschlaggebender Bedeutung, die in diesen Zellen noch völlig normal erscheinen. Die geringe Zahl der Bakterien läßt aber auf einen teilweisen Abbau schließen. Gewöhnlich sind es nur 2—4 Bakteriocyten, die sich noch im Darm befinden und auf mehrere Zotten verteilen. Der schädigende Einfluß, der vom Wirt ausgeht und die Dezimierung der Darmsymbionten zur Folge hat, wirkt sich nur in einer bestimmten Periode aus. Hernach ist den zurückgebliebenen Bakterien ein Verbleiben im Darm möglich. Eine Förderung von seiten des Wirtes wird ihnen jedoch nicht mehr zuteil, da keinerlei Vermehrung der Bakterienreste mehr erfolgt.

Bei weniger hohen Temperaturen setzt der Abbau der Mitteldarmsymbionten später ein und beansprucht zur vollkommenen Elimination der Bakterien einen längeren Zeitraum. Bei Zimmertemperatur beginnt in den jungen Imagines die Degeneration der Mikroorganismen im Mitteldarm etwa 20 Tage nach Verlassen der Körner. Das Geschlecht des Wirtes ist für diesen Abbauprozess bei beiden Arten ohne Bedeutung. Ein wichtiger Unterschied ist insofern gegeben, als die Dezimierung der Symbionten im Darm bis zur völligen Sterilität bei den männlichen Individuen zu vollkommen symbiontenfreien Tieren führt, die sich in nichts von solchen unterscheiden, die keine Symbiose eingegangen sind. Im weiblichen Geschlecht dagegen gewinnt der Symbiontenbestand in den Genitalorganen an Bedeutung, ein Vorgang, den wir im folgenden näher betrachten wollen.

Die Ausbildung der Ovarien setzt am Ende des Larvallebens ein. Eine deutliche Vermehrung der Bakterien ist auf diesem Stadium noch nicht feststellbar. Bei frisch geschlüpften weiblichen Individuen sind die Endkammern der Ovariolen relativ klein. Die Grenzen der Zellen sind noch gut wahrnehmbar und die Kerne von stark unterschiedlicher Größe. Bis zum Beginn der Eiablage, die bei optimaler Temperatur gewöhnlich 14 Tage nach dem Schlüpfen einsetzt, vergrößern sich die Nährkammerabschnitte der Ovariolen sichtlich, und die Symbionten vermehren sich in einem Ausmaß, daß jede Endkammer fast das Bild eines Mycetoms bietet (Abb. 7d). Die außerordentlich starke Vermehrung der Mikroorganismen stellt keine Überraschung dar, da die beginnende Legetätigkeit einen gewissen Symbiontenvorrat für die Infektion der Eier in den Endkammern voraussetzt. Größte Beachtung verdient jedoch diese Erscheinung, wenn wir sie mit den Prozessen im Darm in Beziehung setzen. Für das gleiche Tier ergibt sich zur gleichen Zeit ein Abbau der Symbionten im Darm und eine Zunahme in den Ovariolen. Vergleichen wir dies noch mit dem Zustand während der Larvalentwicklung, so ergeben sich dort die umgekehrten Verhältnisse. Durch starke Vermehrung zeichnen sich ausschließlich die Mikro-

organismen im Mycetom aus, während die gleichen Einmieter in den Gonaden zu dieser Zeit einer — sicherlich aufgezwungenen — Vermehrungshemmung unterliegen.

Die Fähigkeiten des Wirtes, im Larvalzustand einen Teil der Symbionten zu fördern, den anderen aber zu hemmen und schließlich in der Imago den Vorgang umzukehren, geben beredtes Zeugnis von den vollkommenen und zweckmäßigen Regulationsmöglichkeiten, mit denen der Wirt die Vermehrung der Bakterien beherrscht. Nur in einem echten symbiontischen Bündnis ist ein derartiges Zusammenspiel zu erwarten, niemals bei einem Kommensalismus oder gar bei einem Parasitismus und sei er noch so gemäßigt. Noch sind wir weit davon entfernt zu wissen, welcher Mittel sich die Tiere zur Erreichung ihrer Ziele bedienen. Die Vermehrung der Symbionten in den Mycetomen und den Endkammern der Ovariolen wäre noch verständlich allein aus der Tatsache, daß der Wirt den Mikroorganismen einen gewissen Raum zur Verfügung stellt. Aber die Vermehrungshemmung in den Gonaden und der Symbiontenabbau im imaginalen Mitteldarm erfordern ein aktives Eingreifen des Wirtes.

V. Versuche am larvalen und imaginalen Symbiontenbestand

Die Lösung des Hauptproblems der *Calandra*-Symbiose, das in der Frage nach dem Nutzeffekt des Zusammenlebens gipfelt, erforderte die Entscheidung für eine der beiden Methoden, die in den bisherigen experimentellen Symbiosearbeiten mit Erfolg angewendet worden sind. Da die außerordentlich große Anpassung der Bakterien an die Lebensweise im tierischen Körper eine Züchtung in vitro vermutlich vor große Schwierigkeiten stellt, das natürliche Auftreten von sterilen Tieren beider Arten dagegen einen Faktor voraussetzt, der sicher den Symbiontenabbau bewirkt, schien der zweite Weg — experimentell erzeugter Symbiontentod und physiologische Untersuchungen an sterilen Tieren — erfolgversprechender. Es lag nahe, zunächst jene Methoden in Anwendung zu bringen, die bei den bisherigen Untersuchungen zum Erfolg geführt haben.

1. Zentrifugieren der Eier

Durch Zentrifugieren frisch abgelegter Eier konnte ASCHNER (1934) die intrazellularen Symbionten der Kleiderlaus ausschalten. In jüngster Zeit wandte PUCHTA (1955) diese Methode am gleichen Objekt mit Erfolg an. Nach dieser Technik (genaue Beschreibung bei PUCHTA 1955) wurden Eier von *C. granaria* und *C. oryzae* 12 Std lang behandelt. Durch entsprechende Anordnung der Körner konnte die Zentrifugalkraft sowohl in der Quer- als auch in der Längsrichtung der Eier wirken. Die Sterblichkeit der behandelten Eier war bei beiden *Calandra*-Arten sehr groß, und nur in Einzelfällen entwickelten sich noch Larven. Ihr Symbiontenbestand war völlig normal.

2. Hungerversuche

Die Lebensdauer der Käfer wird in starkem Maße durch die Art der Nahrung, die Temperatur und Luftfeuchtigkeit bestimmt. Bei hohem Luftfeuchtigkeitsgehalt vermag sich *Calandra* ohne Nahrung längere Zeit am Leben zu erhalten (ANDERSEN 1934). Daß dabei der Symbiontenbestand nicht unbeeinflußt bleibt, ist höchstwahrscheinlich, da die Tiere im Zytoplasma den Bakterien den Nährboden zur Verfügung stellen.

30 Käfer, hauptsächlich Weibchen, wurden in ein Tablettenglas gegeben und bei 28° C mit 85 % RH gehalten. Die 1. Woche vermochten alle Tiere zu überleben. Nach 8 Tagen starben 2, nach 11 waren bereits 9 Tiere tot. In den folgenden Tagen nahm die Sterblichkeit rasch zu, bis nach 3 Wochen alle Käfer eingegangen waren.

Die Präparation solcher Versuchstiere liefert gegen Ende des Lebens stets das gleiche Bild: Der Fettkörper ist restlos aufgebraucht, die Rückendecke eingesunken, und der vollkommen leere Mitteldarm ist von einer großen Luftblase aufgetrieben. Auch die Strukturveränderung der Symbionten ist auf den ersten Blick feststellbar. Die 20—40 μ langen Ketten weisen fast ausnahmslos 1 oder 2 Anschwellungen auf, die wesentlich breiter sind als der übrige Bakterienleib und welche die Farbe sehr stark aufnehmen (Abb. 8). Es liegt natürlich der Gedanke nahe, daß die Bakterien unter diesen ungünstigen Lebensbedingungen Dauerformen ausbilden. Die Sporenfärbungen nach KLEIN und RAKETTE liefern jedoch negative Ergebnisse. Die volle Funktionsfähigkeit der so veränderten Symbionten bewies ein Parallelversuch, in dem die Tiere kurz vor dem Absterben wieder auf Futter gegeben wurden. Sie erholten sich zum Teil und erzeugten nach einiger Zeit sogar Nachkommen, deren Bakterienbestand völlig normal war. Der Nahrungsmangel allein reicht demnach nicht aus, um den Symbiontenschatz der Tiere so durchgreifend zu schädigen, daß seine Degeneration erfolgt.

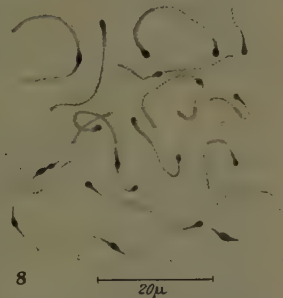


Abb. 8. *C. granaria*: Symbionten aus den Ovariolenendkammern eines Weibchens, das 15 Tage ohne Nahrung lebte

3. Der Einfluß erhöhter Temperaturen auf den Symbiontenbestand

Da sich während der Hungerversuche keine Beeinträchtigung von Wachstum und Lebensfähigkeit der Symbionten ergeben hat, entfällt der Nahrungsfaktor als vermutliche Ursache des Bakterienverlustes bei *C. granaria* var. *africana* und es verbleiben Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Die beschränkte Resistenz der *Oryzaephilus*-Symbionten gegen hohe Temperaturen, die KOCH im Experiment nachweisen konnte, veranlaßte ihn, das Entstehen der sterilen Kornkäferrasse in Ägypten

ebenfalls in ursächlichen Zusammenhang mit der Temperatur zu bringen (KOCH 1936). Die klimatischen Verhältnisse des nordafrikanischen Raumes geben die Berechtigung zu dieser Hypothese. In Tabelle 1 sind die Temperaturschwankungen im Verlauf eines Jahres für Giza bei Kairo zusammengestellt (Lufttemperatur im Schatten). Die mittleren Höchstwerte steigen in diesem Gebiet im Sommerhalbjahr während 5 Monaten auf über 31° C an und erreichen im Juli sogar die 35°-Grenze. Das sind Temperaturen, in deren Bereich die Symbionten des Getreideplattkäfers restlos degenerieren.

Tabelle 1. Die Temperaturverteilung im Verlauf eines Jahres in Kairo-Giza
(Aus KOCH 1936, nach BODENHEIMER)

	Monat											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Durchschnittliches Temperaturmittel	10,9	12,3	15,2	19,0	22,6	25,4	26,6	26,3	23,9	21,6	17,3	12,7
Durchschnittliches Temperaturmaximum	19,1	20,9	23,9	28,1	31,7	34,5	35,1	34,3	31,5	29,5	25,2	20,6
Durchschnittliches Temperaturminimum	5,5	6,3	8,3	11,5	14,4	17,5	19,4	19,8	17,7	15,7	11,9	7,7

Die Untersuchungen über die Sensibilität der *Calandra*-Symbionten gegenüber Temperatur und Luftfeuchtigkeit schienen am raschesten bei solchen Bedingungen zum Abschluß zu kommen, in denen die klimatischen Verhältnisse von Ägypten nachgeahmt wurden. Das sind erhöhte Temperatur und niedrige relative Luftfeuchtigkeit.

Der Bakterienbestand der abgelegten Eier ist noch relativ gering und erfährt erst im Zuge des individuellen Wachstums eine starke Vermehrung. Daher versprach die Behandlung der Larvalstadien mit erhöhter Temperatur am meisten Erfolg. Der einführende Versuch bei 34° C und 35—40% RH verlief negativ. Unter diesen ungünstigen Bedingungen stellten die Weibchen ihre Legetätigkeit ganz ein. In der Folge wurden deshalb die Legekulturen für 2 Tage unter optimalen Bedingungen gehalten. Die belegten Getreidekörner konnten nunmehr den verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt werden, wie sie in Tabelle 2 zusammengefaßt sind.

Die ungünstigste Kombination von Temperatur und Luftfeuchtigkeit, welche gerade noch lebende Imagines erbrachte, lag bei 30° C und 40 bis 50% RH. Unter dieser Versuchsanordnung schlüpfen lediglich zwei Weibchen, welche mit normalen Männchen gepaart wurden. Die Schnittpräparate der sich unter optimalen Bedingungen entwickelnden Larven der F₁-Generation zeigten Mycetome von üblichem Bau und dichter Bakterienbesiedelung.

Aus dieser Versuchsserie folgt, daß die Entwicklung beider *Calandra*-Arten nur bei solchen klimatischen Bedingungen glatt vonstatten geht, welche auf die intrazellularen Symbionten keinen nachteiligen Einfluß ausüben.

Infolge der großen Mortalität von Eiern und Larven beider Arten in Temperaturbereichen, die einen symbiontenschädigenden Einfluß er-

Tabelle 2. Die Entwicklungsmöglichkeit von *C. granaria* und *C. oryzae* bei verschiedenen kombinierter Temperatur und Luftfeuchtigkeit

Art	Temperatur °C	Relative Luftfeuchtigkeit %	Belegte Körner	Tote Eier	Tote Larven	Tote Käfer	Le- bende Käfer
<i>C. granaria</i>	36	100	68	68	—	—	—
<i>C. oryzae</i>	36	100	46	45	1	—	—
<i>C. oryzae</i>	33	70	198	170	26	2	—
<i>C. oryzae</i>	33	30—40	70	67	3	—	—
<i>C. oryzae</i>	30	40—50	76	62	7	5	2
<i>C. granaria</i>	26	35—40	13	13	—	—	—
<i>C. granaria</i>	26—27	40—50	83	46	23	8	6
<i>C. oryzae</i>	26—27	40—50	30	19	10	—	1
<i>C. granaria</i>	26	55	76	—	—	—	76
<i>C. oryzae</i>	26	55	36	—	—	—	36

warten lassen, schieden die Versuche an Larven aus. Es verblieben Untersuchungen an den Imagines, deren Wärmeresistenz im Vergleich zu den Larven etwas größer ist.

Eine bestimmte Anzahl von Imagines wurde in einen Thermostaten gegeben, dessen relative Luftfeuchtigkeit beim ersten Versuch 85%, bei den weiteren stets 100% betrug, da hierdurch die Widerstandsfähigkeit der Käfer erhöht werden konnte. Nach Ablauf einer für jeden Versuch festgelegten Zeit kamen die Tiere in optimale Bedingungen zurück. Die folgende Generation mußte zeigen, ob die kurzfristige Wärmebehandlung den Symbiontenschatz der Insekten entscheidend beeinflussen konnte.

a) *Calandra granaria*. Für den ersten orientierenden Versuch wählte ich eine Temperatur von 35° C. Schon nach wenigen Tagen machten sich bei den Versuchstieren die Folgen der Temperatureinwirkung bemerkbar: Die Laufgeschwindigkeit verminderte sich, und einige Tiere starben. Nach 2 Wochen hatte die Sterblichkeit stark zugenommen, und die überlebenden Individuen ließen an ihrem Verhalten erkennen, daß sie dem Tode nahe waren. Nach 17tägigem Aufenthalt wurden die Käfer in optimale Bedingungen zurückgegeben. Von den 100 Tieren zu Versuchsbeginn lebten zu diesem Zeitpunkt nur noch 30. In den nächsten Tagen gingen weitere Käfer ein, so daß zur folgenden Beobachtung nur noch 15 Individuen zur Verfügung standen. Zwei bis drei Wochen nach Beendigung der Hitzeinwirkung begannen die

Weibchen erneut mit der Ablage von Eiern, aus denen sich lebensfähige Käfer entwickelten. Die histologische Untersuchung der Larven ließ *deutliche Veränderungen der symbiontischen Einrichtungen* erkennen.

Das Mycetom nimmt seinen gewohnten Platz ein, stellt aber nur mehr eine unbedeutende Zellmasse dar. Durch die ungleiche Verteilung der wenigen Zellen kommt die gleiche hantelförmige Gestalt zustande, die auch für die sterilen Mycetome der ägyptischen Kornkäferrasse bezeichnend ist. Bei der überwiegenden Mehrzahl der Larven fehlen die



Abb. 9. *C. granaria*: Schnitt durch das stark verödete Mycetom einer Larve, deren Elterntiere 17 Tage bei 35° C lebten

symbiontischen Mikroorganismen. Bei den übrigen Larven finden sich in den stark reduzierten Mycetomen vereinzelt etwa 3μ lange, distinkt gefärbte Stäbchen (Abb. 9). Erinnern diese auch nicht im entferntesten in Form und Größe an das bekannte Bild der *Calandra*-Symbionten, so müssen wir sie doch mit ihnen in Zusammenhang bringen, da sie nur im Mycetom vorkommen. Offenbar sind es Einzelglieder der unter normalen Bedingungen kettenförmig auswachsenden Mikroorganismen. Wie aus ihrer geringen Zahl gefolgert werden kann, sind sie anscheinend zu einer weiteren Vermehrung nicht mehr fähig.

Der geschilderte Versuch hat die Empfindlichkeit der *Calandra*-Symbionten gegen höhere Temperaturen klar zum Ausdruck gebracht, gleichzeitig auch die Methode aufgezeigt, mit der ihre Degeneration verursacht werden kann. Damit wurden 2 Fragen aufgeworfen:

1. Wie lange muß erhöhte Temperatur auf die Tiere einwirken, um eine Schädigung der pflanzlichen Insassen hervorzurufen?

2. In welcher Weise reagieren die Bakterien auf den nachteiligen Wärmeeinfluß?

Die Antwort auf diese Fragen gaben die folgenden Versuche. Mehrere Hundert Tiere wurden in den Thermostaten bei 35° C gegeben. Die Verwendung nur frisch geschlüpfter Käfer, ferner die Erhöhung der relativen Hydratur auf 100% erwies sich als sehr vorteilhaft, da so die Sterblichkeit der *Calandren* geringer war und sie länger die hohe Temperatur ertragen konnten. In Zeitabständen von 5 Tagen wurde eine Anzahl von Tieren in optimale Bedingungen zurückgegeben und an deren Nachkommen die Abhängigkeit des Symbiontenabbaus von der Zeitdauer des Temperatureinflusses untersucht. In den gleichen Zeitintervallen kamen einige Versuchstiere selbst zur histologischen Untersuchung.

Läßt bereits das Ergebnis des vorangegangenen Versuchs auf eine große Sensibilität der Symbionten gegen hohe Temperaturen schließen, so überrascht es doch, daß bereits ein 5tägiger Aufenthalt bei 35° C genügt, um auf den Bakterienbestand der Imagines einen nachteiligen Einfluß auszuüben. Neben Larven mit normalem Symbiontenschatz treten etwa im gleichen Ausmaß in der F₁-Generation Larven mit stark rückgebildeten Mycetomen auf. Vollkommene Sterilität ist nach solch kurzer Wärmebehandlung nur in Ausnahmefällen zu erwarten.

Das Hüllgewebe der atrophierten Mycetome ist kräftiger ausgebildet, und die normalerweise linsenförmigen Kerne sind oval bis rundlich. Das Plasma der großkernigen Bakteriocyten färbt sich mit Eisenhämatoxylin kräftig an. In ihm sind distinkt gefärbte Kurzstäbchen in verschiedener Zahl enthalten (Abb. 10a). Hinsichtlich Form und Färbbarkeit erinnern sie ganz an jene Stadien, die im Rahmen des normalen Symbiontenabbaus im imaginalen Darm entstehen. Erlaubt das gleiche Erscheinungsbild noch keinen Schluß auf eine Parallele, so kann doch aus der geringen Anzahl der Bakterien auf ihre Schädigung geschlossen werden. Sie äußert sich zumindest in einer starken Vermehrungshemmung.

Von wesentlich durchgreifenderer Wirkung auf den Symbiontenbestand ist ein 10tägiger Aufenthalt bei 35° C. Alle Larven besitzen stark rückgebildete Mycetome, die spärlich von distinkt gefärbten Kurzstäbchen besiedelt sind.

Die Resultate der 15 Tage dauernden thermischen Beeinflussung stimmen mit denen von 17 Tagen überein (s. S. 578).

Nach 20 Tage langem Aufenthalt bei 35° C können in keinem Präparat mehr jene distinkt gefärbten Stäbchen nachgewiesen werden. Die weitere Ausdehnung der Versuche auf 25, 30 und 33 Tage — die am längsten dauernde Wärmebehandlung — führt in der F₁-Generation zu total verödeten Mycetomen.

Die Gestalt der sterilen Mycetome unterliegt einer gewissen Variabilität. In stärkerem Maße bestimmen die umliegenden Organe, vor allem Darm und Proventriculus, ihr Aussehen. Das Mittelstück verliert stark an Volumen und liegt nun in dem vom Kaumagen und beginnendem Mitteldarm gebildeten Winkel (Abb. 9). Meist erfüllt Fettkörpergewebe die freiwerdende Zone, weniger oft begrenzen Darm und Bauchmark die sterilen

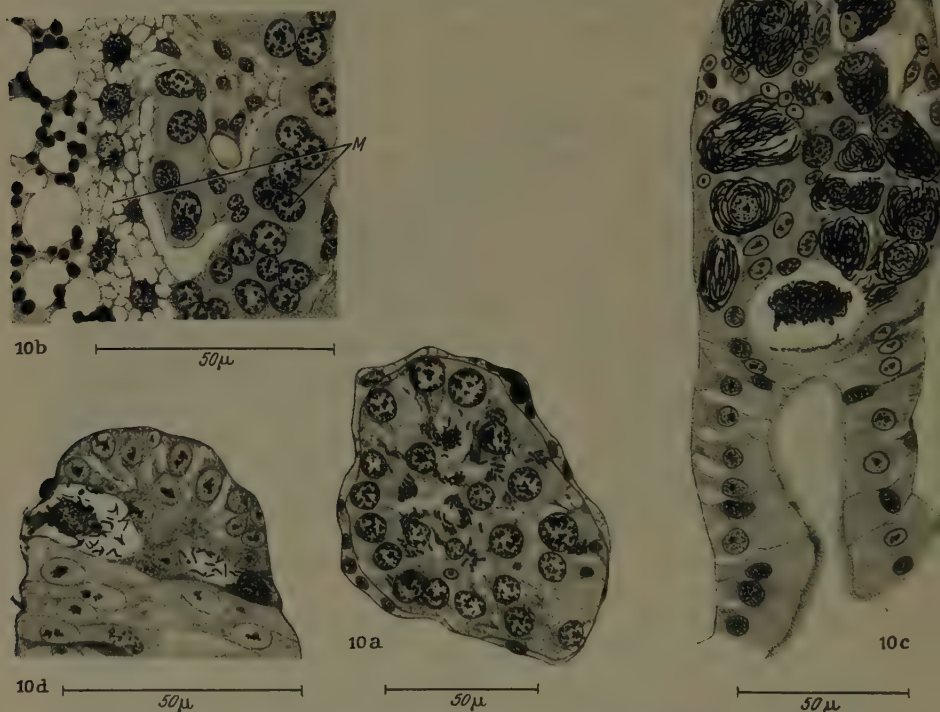


Abb. 10 a—d. a *C. granaria*: Mycetome einer Larve, deren Elterntiere 5 Tage bei 35° C lebten. b *C. granaria*: Ausschnitt aus dem sterilen Mycetome einer Larve mit vakuolenreichen Zellen im ventralen Teil. c *C. granaria*: Darmzotte eines Tieres, das 28 Tage bei 35° C lebte. d *C. granaria*: Bacteriocyten mit hochgradig degenerierten Symbionten aus der Darmzotte eines Tieres, das 33 Tage bei 35° C, anschließend 55 Tage unter optimalen Bedingungen lebte

Mycetome (Abb. 5). Die prospektiven Bacteriocyten enthalten große Kerne, und die geringe Zellvermehrung während der Larvalentwicklung erfolgt auf mitotischem Wege. Häufig unterbleibt dabei die Plasmateilung, so daß zweikernige, seltener dreikernige Syncytien entstehen. Auffallend ist die Plasmaarmut der unbesiedelten Bacteriocyten, die in ihrem gesamten Habitus den larvalen Mitteldarmzellen gleichen. Lediglich ein Präparat bietet etwas anders geartete Ver-

hältnisse. Das sterile Mycetom enthält hier zwei deutlich voneinander geschiedene Zonen: einen dorsalen Anteil mit gewöhnlichen Zellformen und einen ventralen Teil mit stark vakuolisierten Zellen. Der ventrale Abschnitt geht unvermittelt in den Fettkörper über (Abb. 10 b).

Alle diese Erscheinungsformen der Bakterienorgane stellen bereits das Resultat der zum Abschluß gekommenen Degeneration der Symbionten dar. Der fortschreitende Abbau der Mikroorganismen sei Gegenstand der folgenden Betrachtungen.

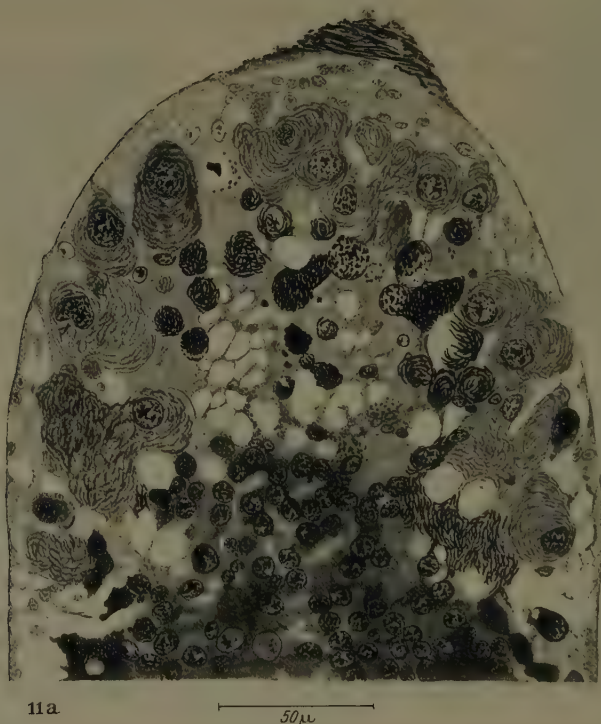
Es ist ziemlich schwierig, den Beginn der Symbiontenschädigung auf Grund der Bakterienmorphologie zu erfassen. Die äußeren Veränderungen an den Mikroorganismen sind am Anfang recht geringfügig. Die inneren Wandlungen sind dagegen schon weit fortgeschritten, wie aus den Folgeerscheinungen in der F_1 -Generation nach nur 5tägiger Wärmebehandlung geschlossen werden kann.

Relativ leicht ist der Abbau der Mikroorganismen im Mitteldarm zu verfolgen, da der gleiche Weg wie bei der normalen Eliminierung eingeschlagen wird. Die natürliche Dezimierung, die das Wirtstier vollzieht, tritt aber hinter dem künstlich induzierten Abbau zurück. Die sich steigernde Färbbarkeit setzt zögernder ein und erfaßt jeweils nur einzelne Bakterienzellen. Gegen Ende der 17tägigen Wärmebehandlung bahnt sich an den Symbionten eine Veränderung an: Die distinkt gefärbten, fadenförmigen Mikroorganismen zerfallen, und die Einzelglieder gewinnen an Breite. In der Folge vollzieht sich bei optimaler Temperatur rasch der weitere Abbau. Die geschädigten Bakteriocyten verklumpen, verlassen in kurzen Abständen das Epithel und treten in das Darm-lumen aus. Nach etwa 10 Tagen ist der Prozeß abgeschlossen, und die Darmzotten sind symbiontenfrei. Ein längerer Aufenthalt bei 35° C beschleunigt den Abbau der Darmsymbionten erstaunlicherweise nicht. Abb. 10c zeigt die Darmzotte eines Tieres nach 28tägigem Wärmeeinfluß. Der Endabschnitt der Zotte enthält noch zahlreiche Bakteriocyten zu einem Zeitpunkt, wo sonst bei nur 17tägiger Hitzebehandlung und anschließendem Aufenthalt unter optimalen Bedingungen der Ausschluß der Bakterienzellen aus dem Darmepithel bereits vollzogen ist. Die endgültige Elimination der Bakteriocyten findet auch hier erst unter optimalen Bedingungen im Verlaufe von 10 Tagen statt. Gleiches beobachtete A. HUGER (1956) an den Mycetominsassen der männlichen Tiere von *Rhizopertha dominica*, die im normalen Zyklus der Symbiose ebenfalls einer Degeneration unterliegen. Bei optimaler Temperatur sind sie 25—30 Tage nach dem Schlüpfen schon weitgehend abgebaut. Ein Aufenthalt bei 38° C hemmt gleichfalls den Eliminationsprozeß.

Während nach dem natürlichen Abbau der Mikroorganismen im Darm der Imagines häufig einige Bakteriocyten zurückbleiben, wirkt die erhöhte Temperatur durchgreifender. Bei all meinen Untersuchungen

begegneten mir lediglich 2 Fälle, bei denen jeweils in einer Mitteldarmausstülpung noch heute Reste der ehemaligen starken Besiedelung nachzuweisen waren (Abb. 10 d).

Die künstlich hervorgerufene Degeneration der Darmsymbionten bietet letzten Endes nur eine Parallele zum normalen Eliminations-

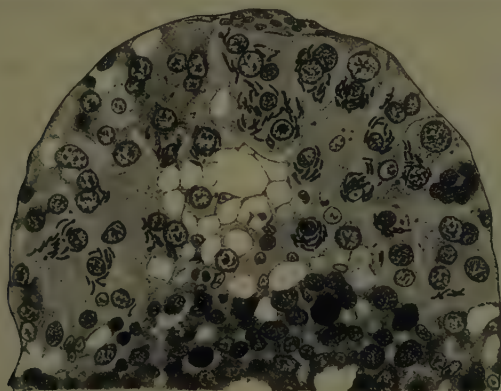


prozeß in der Imago. Von ausschlaggebenderer Bedeutung erscheint mir jener Bakterienabbau, der sich unter dem Einfluß der hohen Temperatur in den Endkammern der Ovariolen vollzieht.

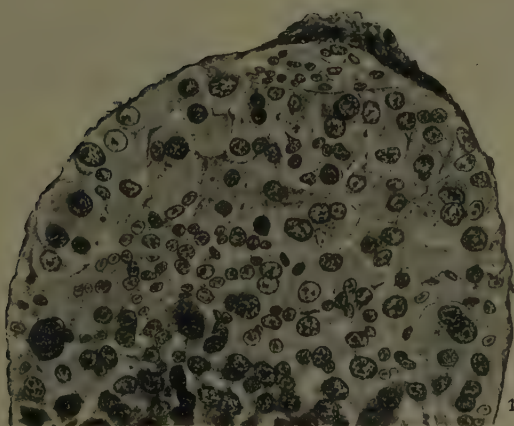
Die augenfälligste Veränderung der Mikroorganismen drückt sich auch hier nach wenigen Tagen schon durch eine Zunahme der Färbbarkeit aus. Das Zentrum der Nährkammer stellt den Ausgangspunkt für die weitere Degeneration dar. Die distinkt gefärbten Bakterienketten zerfallen in ihre Glieder und bilden Klumpen, an welchen kaum mehr Einzelheiten zu erkennen sind (Abb. 11a). Zur gleichen Zeit entstehen in der Endkammer, bevorzugt in ihrem mittleren Teil, zahlreiche Vakuolen.

Die weitere Degeneration der stark geschädigten Symbionten vollzieht sich nach Abschluß der Wärmebehandlung. In unmittelbarer

Nachbarschaft der Kerne finden offenbar lytische Prozesse statt, durch welche die stark tingierten Symbionten wieder an Färbbarkeit verlieren, mehr und mehr verblassen, bis nach abgeschlossener Resorption das Plasma eine gleichmäßige Struktur zeigt. Stets sind es eng begrenzte



11b



11c

Abb. 11a—c. a *C. granaria*: Längsschnitt durch die Ovariolenendkammer eines Tieres, das 28 Tage bei 35° C lebte. b *C. granaria*: Endkammer eines weiblichen Versuchstieres nach 30 Tage langer Behandlung mit 35° C und anschließendem 30tägigem Aufenthalt bei 28° C. c *C. granaria*: Sterile Endkammer eines weiblichen Versuchstieres 55 Tage nach Abschluß der 33tägigen Wärmebehandlung

Bereiche, in den die Auflösungserscheinungen vonstatten gehen. Dicht daneben können noch stark gefärbte Symbiontenmassen liegen, die bei weniger dichter Lagerung bereits im Schnittpräparat weitere morphologische Veränderungen an den einzelnen Bakterien erkennen lassen. Etwa 15 Tage nach Abschluß der Wärmebehandlung treten Degenerationsformen auf, die punktförmige Gebilde mit einem kurzen faden-

förmigen Anhang darstellen. Zur nämlichen Zeit setzt die Eireife erneut ein, und der Wiederbeginn der Legetätigkeit wird eingeleitet. Zum Teil wandern die degenerierten Symbionten durch die Nährstränge in die heranwachsenden Eier ab. Dadurch erfährt der Symbiontenbestand der Endkammern eine rasch fortschreitende Reduktion. 30 Tage nach Abschluß der Hitzebehandlung enthalten die Geschlechtsorgane nur noch geringe Bakterienreste, und infolge des verminderten Inhaltes tritt eine Schrumpfung der Endkammern ein (Abb. 11b). 20—30 Tage später sind auch die letzten Symbionten eliminiert. Hand in Hand mit dem

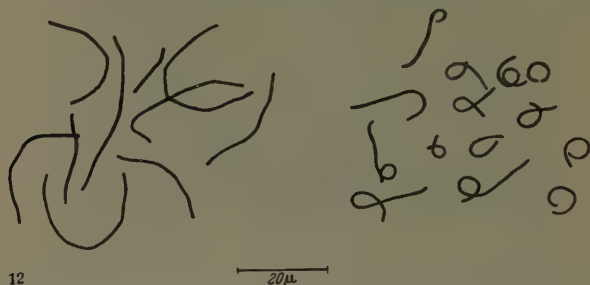


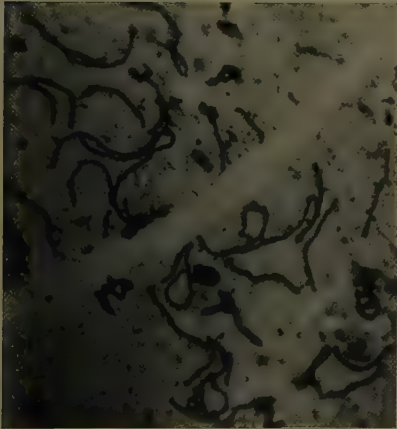
Abb. 12. Symbionten aus dem Mitteldarm einer Imago. Links unmittelbar nach der Präparation; rechts 45 min in 0,64 %iger NaCl-Lösung

Abbau der Mikroorganismen geht die weitere Regeneration der Endkammern. Die Vakuolen verschwinden vollkommen, und die Zahl der Kerne nimmt zu (Abb. 11c). Eine normale Produktion von Eiern setzt ein, aus denen sich vollkommen symbiontenfreie Tiere entwickeln. Insgesamt werden bei einem 30 Tage dauernden Aufenthalt bei 35° C etwa 80—90 Tage benötigt, bis die Symbionten in Darm und Geschlechtsorganen der Versuchstiere restlos abgebaut sind.

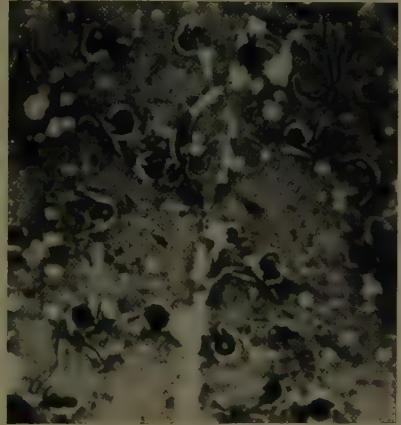
Um die morphologischen Veränderungen der Symbionten lückenlos zu erfassen, war es notwendig, außer den Schnittpräparaten auch Ausstriche zum Studium heranzuziehen. Die Präparation der Käfer erfolgte in 0,64 %iger NaCl-Lösung. Von großer Wichtigkeit für die Erhaltung der natürlichen Gestalt der Mikroorganismen war die Konzentration des Präparationsmediums. Die Eignung der verwendeten Flüssigkeit wurde vorher in einem Versuch geprüft: Einem soeben geschlüpften Tier wurde der Mitteldarm entnommen, die Symbionten in der physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt und im Phasenkontrastmikroskop beobachtet (Abb. 12, links). In der überwiegenden Zahl stellen die Bakterien Ketten von 30—40 μ Länge dar, doch sind kleinere und größere Formen keine Seltenheit. Die längste Kette mißt 114 μ . Der Durchmesser eines Bakteriums schwankt zwischen 0,8 und 1 μ . Die Gestalt der Symbionten wechselt sehr: bald sind sie gerade, bald

mehr oder minder stark gekrümmt. Häufig sind an den lebenden Mikroorganismen eine oder zwei Stellen wahrzunehmen, die licht und völlig durchsichtig erscheinen. An fixierten Präparaten können sie als Einschnürung nachgewiesen werden (s. auch SCHEINERT, Abb. 23 b, S. 110). Eigenbewegung fehlt den Mikroorganismen, ebenso die Fähigkeit zur Schleimbildung, wie Tuschepräparate zeigen.

Nach 30 min etwa sind in der physiologischen NaCl-Lösung an den Organismen erste Gestaltveränderungen wahrnehmbar, die sich steigern



13a



13b

25μ

Abb. 13a u. b. a Symbionten aus den Endkammern der Ovariolen nach 17tägiger Wärmebehandlung. b Symbionten aus den Ovariolenendkammern eines Weibchens, das 25 Tage bei 35° C und anschließend 17 Tage unter optimalen Bedingungen lebte

und nach 45—60 min jene Formen entstehen lassen, die auf Abb. 12 (rechts) dargestellt sind. Meist an einem Ende beginnend, krümmen sich die Bakterien ein, und schließlich kommen ringförmige oder spiralig aufgerollte Gebilde zustande. Diese nicht vollkommen isotonsche NaCl-Lösung genügte für meine Zwecke vollauf, da zur Präparation der Tiere bis zur Fixierung der Symbionten in den wenigsten Fällen mehr als 3 min benötigt wurden.

Der Einfluß der hohen Temperatur hat in den ersten Tagen keine Formveränderung der Mikroorganismen zur Folge. Nach 17tägigem Aufenthalt bei 35° C hat sich ihre Morphologie jedoch grundlegend geändert. Die zahlenmäßig noch nicht verminderten Bakterien behalten zunächst ihre langgestreckte Gestalt bei, schwellen aber in unterschiedlichem Maße an und bilden knotige Verdickungen. Solche Mikroorganismen treten im normalen Zyklus der Symbiose nie auf, und wir dürfen sie wohl als typische Involutionsformen bezeichnen (Abb. 13 a). Die weiteren Veränderungen vollziehen sich vor allem nach Abschluß der

Wärmebehandlung unter optimalen Bedingungen. Die Mikroorganismen zerfallen, und es entstehen jene Kurzstäbchen, von denen bereits öfter die Rede war.

Häufig nimmt der Verfall der Bakterien einen ganz anderen Verlauf. Die langgestreckten Mikroorganismen rollen sich ein, bilden zunächst einen einfachen Ring, der sich verdoppelt, verdreifacht und dabei immer dichter und kompakter wird. Schließlich entstehen fadenartige Gebilde mit einem fadenförmigen Anhang oder einheitliche Klumpen (Abb. 13b). Die weitere Degeneration dieser Involutionsformen äußert sich in der kontinuierlichen Abnahme des Tinktionsvermögens.

Die Thermosensibilität der *Calandra*-Symbionten bot die erfolgversprechende Grundlage zur Klärung der Frage, ob diese Mikroorganismen die Fähigkeit zur Sporenbildung besitzen. PIERANTONI (1927) beobachtete in den Mycetomen zwischen den normalen Bakterien Granula, die er für Sporen hielt. Auch seine Schülerin TARSIA IN CURIA (1933, S. 257) glaubte in den Bakteriocyten des imaginalen Mitteldarmes Sporen festgestellt zu haben. Solche Schlußfolgerungen, die allein auf den morphologischen Veränderungen der Mikroorganismen fußen, sind verfrüht, da gerade bei den Endosymbionten häufig Modifikationen auftreten, welche keine Sporen darstellen.

In Abständen von 5 Tagen wurden während des Aufenthaltes in der hohen Temperatur weibliche Tiere präpariert, die Mikroorganismen den Ovariolen entnommen und nach den Methoden von KLEIN¹ und RAKETTE² behandelt. Alle Nachweisversuche von Sporen verliefen negativ.

Nach den Erfahrungen, die sich im Laufe der Temperaturversuche ergeben haben, überrascht dieses Ergebnis keineswegs. Wahrscheinlich hätten resistente Sporenzustände den völligen Abbau der Symbionten unmöglich gemacht.

b) *Calandra oryzae*. Die außerordentlich hohe Sensibilität der Symbionten von *C. granaria* gegenüber geringfügig erhöhten Temperaturen bewog mich, auch *C. oryzae* in diese Arbeit einzubeziehen. Die vielen gemeinsamen Züge in der Symbiose der beiden *Calandra*-Arten legen die Vermutung nahe, daß *C. granaria* und *C. oryzae* den gleichen Bakterienstamm beherbergen. Daher müßte das symbiontische Bündnis der Reiskäfer, die ja im Gegensatz zu den Kornkäfern in wärmeren Gebieten beheimatet sind, bedeutend instabiler sein. Genau das Gegenteil ist aber der Fall. Die ägyptische Population von *C. oryzae* z. B. hat unter den gleichen Bedingungen, die bei *C. granaria* var. *africana* zur Degeneration der Symbionten geführt haben, ihren Bakterienbestand

¹ Tinktion mit Karbolfuchsin; entfärben mit 10%igem Na-Thiosulfat und Nachfärbung mit Methylenblau.

² 5%ige Malachitgrünlösung und Nachfärbung mit 3%igem Safranin.

bewahrt. Lediglich mein Fund zweier Exemplare von *C. oryzae* aus einer normalen Kultur weist darauf hin, daß auch bei dieser Art der Symbiontenbestand beeinflussbar ist. Die Aufdeckung der Zusammenhänge erbrachte das Experiment.

Die Methodik war durch meine Untersuchungen an *C. granaria* vorgezeichnet. Die Versuchstiere — ausschließlich junge Imagines — wurden bei 35° C und 100 % RH gehalten. Da *C. oryzae* gegen hohe Temperaturen empfindlicher ist als *C. granaria* (BACK und COTTON 1924, BODENHEIMER 1927), überraschte es, daß unter diesen Voraussetzungen die Wärmebehandlung ebenfalls auf 33 Tage ausgedehnt werden konnte. Allerdings war stets mit einer 50—60%igen Sterblichkeit der Versuchstiere zu rechnen. In Abständen von 5 Tagen wurde eine gewisse Anzahl von Tieren in optimale Bedingungen zurückgegeben. Gleichzeitig kam auch der Symbiontenbestand von Darm und Ovariolen der Versuchstiere an Hand von Schnittpräparaten und Ausstrichen zur Untersuchung.

Die kontinuierlich erfolgende Eireife bei den Imagines erfährt durch die hohe Temperatur eine abrupte Unterbrechung. Während nach 2tägigem Aufenthalt stets noch Eier der verschiedensten Entwicklungsstufen in den Ovariolen enthalten sind, hat sich das Bild nach 5 Tagen grundlegend geändert. Die Eiröhren stellen nur mehr feine Fäden dar, in denen die Reifungsvorgänge vollständig zum Stillstand gekommen sind. Nach abgeschlossener Wärmeeinwirkung erfolgt unter normalen Bedingungen eine erneute Reifungsphase, die wie bei *C. granaria* nach etwa 2 Wochen abgeschlossen ist. Die abgelegten Eier entwickeln sich dann zu normalen Larven.

Völlig unbeschadet ertragen die intrazellularen Symbionten von *C. oryzae* einen 5- und 10tägigen Aufenthalt bei 35° C. Ganz anders sind jedoch die Verhältnisse nach 15 Tage dauerndem Verweilen in der hohen Temperatur. Neben normal besiedelten Larven treten etwa im gleichen Ausmaß Larven auf, deren Bakterienorgane außerordentlich klein und nur schwer auffindbar sind. Lediglich auf Grund ihrer unveränderten Lage können sie bestimmt werden. Diese Mycetome sind vollkommen steril (Abb. 14 a). Ihr histologischer Bau weicht merklich von dem bei *C. granaria* ab. Das schwach färbbare Protoplasma der pleomorphen Zellen ist mengenmäßig gering und stark vakuolisiert. Dadurch zeigt der gesamte Zellkomplex trotz der verschwindenden Größe eine viel lockerere Gliederung als die sterilen Organe der Kornkäferlarven. Wie bei *C. granaria* gleichen also auch hier die Zellen der bakterienfreien Mycetome strukturell den benachbarten Darmepithelzellen. Dies wirft erneut die Frage nach dem Ursprung der Bakteriocyten auf. Nach SCHEINERT (1933) sind die Zellen des Mycetoms ektodermaler Herkunft. MANSOUR (1927) dagegen leitet sie von der Mitteldarmanlage ab. Die

Auffassung MANSOUR² scheint mir nicht so abwegig, da hierdurch ein gewisser Zusammenhang mit den anderen Rüsselkäfersymbiosen deutlich werden würde. Die Mikroorganismen sind bei diesen Tieren stets im Anfangsteil des Mitteldarms lokalisiert. Das *Calandra*-Mycetom wäre als eine fortgeschrittene Entwicklungsstufe dieser einfacheren Typen zu

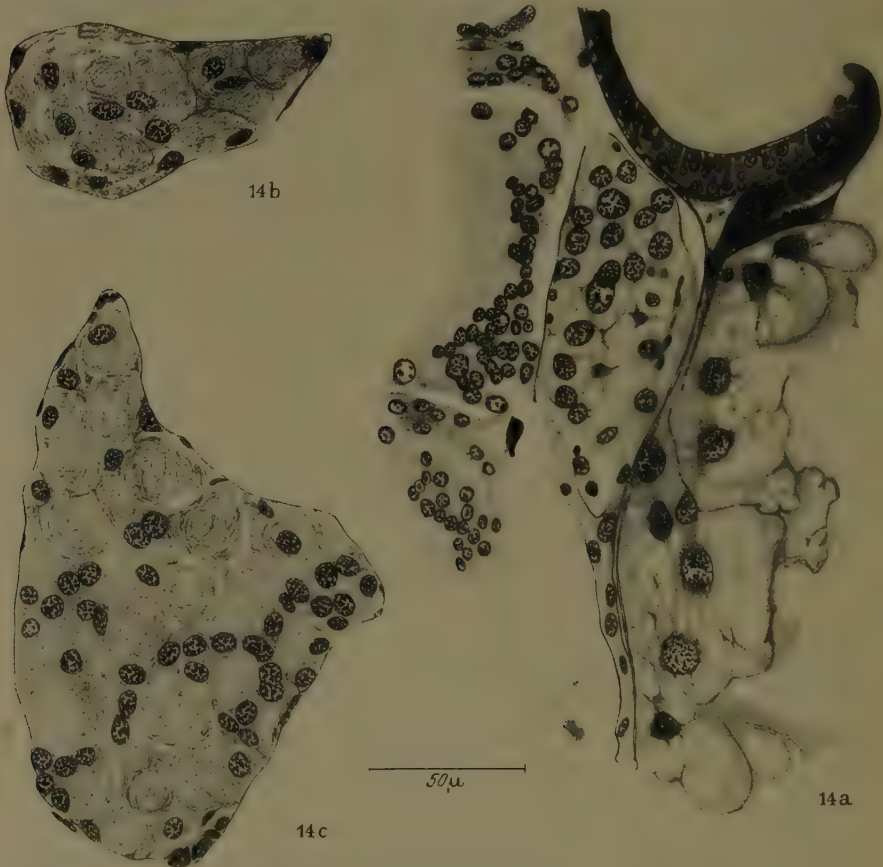


Abb. 14a c. a *C. oryzae*: Steriles Mycetom einer Larve, deren Elterntiere 15 Tage bei 35° C lebten. b *C. oryzae*: Stark reduziertes larvales Mycetom mit normal besiedelten Zellen (das Elterntier lebte 15 Tage bei 35° C). c *C. oryzae*: Geschrumpftes Mycetom einer Larve mit normal besiedelten und sterilen Zellen (das Elterntier lebte 15 Tage bei 35° C)

betrachten, und es wäre naheliegend, daß trotz der völligen Absonderung des Bakterienorgans die Herkunft der Mycetocyten aus der Mitteldarmanlage erhalten geblieben ist.

Zwischen diesen völlig normalen und den restlos verödeten Mycetomen vermitteln Stadien, die zahlenmäßig etwa den gleichen Prozentsatz ausmachen wie die beiden erstgenannten Typen zusammen. Diese Zwischenstufen sind ein Charakteristikum für *C. oryzae*. Die Mycetome

sind in all diesen Fällen von stark unterschiedlicher Größe, immer bedeutend kleiner als die Normalform und häufig nicht umfangreicher als vollkommen sterile. Ihre Zellen sind meist prall mit Symbionten gefüllt, und einzeln betrachtet bieten sie das Bild normaler Infektion. Die mäßige Färbbarkeit der fädigen Bakterien läßt auf volle Funktionsfähigkeit schließen (Abb. 14 b). Bei der Durchmusterung jener Objekte, die mit einem umfangreicheren Mycetom ausgestattet sind, machen wir eine bedeutsame Feststellung. Neben den vollbesiedelten Mycetocyten sind zahlreiche, plasmaarme Zellen eingestreut, welche keine Symbionten beherbergen (Abb. 14 c). Kerngestalt und Chromatinverteilung bekunden die genetischen Beziehungen zu den besiedelten Zellen, und zweifellos haben wir in ihnen Bakteriocyten vor uns, die im Laufe der Larvalentwicklung keine Symbionten mehr aufgenommen haben. Nur das homogene Plasma läßt an der Natur der Zellen einige Bedenken aufkommen; denn es müßte bei *C. oryzae* vakuolenreicher sein. Bei anderen Objekten, welche nur vereinzelt prall mit Symbionten angefüllte Zellen enthalten, ist das Plasma der sterilen Bakterienzellen jedoch nicht mehr von einheitlichem, vakuolenfreiem Aufbau, sondern es weist die für *C. oryzae* typischen Merkmale auf. Damit erhebt sich eine wichtige Frage: Warum haben diese Zellen keine der unmittelbar benachbarten Mikroorganismen aufgenommen?

Offenbar wandern die Mikroorganismen des geschmälernten Symbiontenbestandes weniger zahlreich in die reifenden Eier ein. Zu erwarten wäre nun, daß durch eine raschere Vermehrung der Mikroorganismen während der Larvalentwicklung die normale Mycetomgröße zustande kommt. Doch macht sich hier wohl das Regulationsvermögen des Wirtes bemerkbar, das die Teilungsrate der Symbionten beschränkt, und zwar unabhängig von der ursprünglichen Zahl der Bakterien. Merkwürdigerweise treten aus den prall gefüllten Mycetocyten keine Symbionten in die nicht infizierten Bakterienzellen über. Ob die Ursache hierfür die Zellmembran ist, die im Laufe der Embryonalentwicklung erst nach der Besiedelung der Bakterienzellen ausgebildet wird (SCHEINERT 1933), bleibt dahingestellt.

Die Wirkung der 20 Tage dauernden Wärmebehandlung entspricht der von 15 Tagen.

Die untersuchten Larven jener Versuchstiere, die 25, 30 und 33 Tage bei 35° C lebten, sind ausnahmslos symbiontenfrei.

Während bei *C. granaria* die sterilen Mycetome auch ohne Inhalt sehr gut nachweisbar sind und vor allem in den Schenkelregionen kernreiche Zellhaufen darstellen, sind die entsprechenden Organe bei *C. oryzae* wesentlich kleiner (Abb. 14 a, vgl. Abb. 9. Maßstab!). Zellteilungen konnte ich in den unbesiedelten Bakterienorganen von Reiskäferlarven im Gegensatz zu *C. granaria* nicht beobachten.

Im folgenden wollen wir die Vorgänge näher betrachten, die sich an den Symbiontenbeständen der wärmebehandelten Versuchstiere abspielen. Es erübrigt sich dabei, näher auf den Abbau der Darmsymbionten einzugehen, da er genau wie bei *C. granaria* abläuft. Eingehender wollen wir die Degeneration der Symbionten in den Ovariolenendkammern verfolgen.

Die weiblichen Reiskäfer besitzen wie die Kornkäfer beiderseits zwei in Fettkörpergewebe eingebettete Ovariolen. Die Endkammerabschnitte bleiben auch auf dem Stadium der vollen Legetätigkeit größtmäßig weit hinter denen von *C. granaria* zurück. Wie bei den Tieren der verwandten Art bewirkt die hohe Temperatur ein sich steigerndes Tinktionsvermögen der Symbionten. Etwa am 10. Tag der Wärmebehandlung sind Mikroorganismen feststellbar, die an beiden Enden oder in der Mitte anschwellen und sich kräftig tingieren. Im weiteren Verlauf tritt der fadenartige Charakter der Symbionten immer mehr zurück. Sie zerfallen in Fragmente, verbreitern sich, so daß schließlich runde oder ovale Gebilde entstehen. Nach 25 Tage langer Wärmebehandlung enthalten die Ovariolenendkammern der Weibchen ausschließlich solche Bakterienformen. Unter optimalen Bedingungen wachsen diese geschädigten Mikroorganismen nicht mehr zu fadenartigen Bakterien aus, sondern verblassen im Laufe von 50—60 Tagen mehr und mehr und verschwinden schließlich ganz. Damit sind die Versuchstiere symbiontenfrei.

e) Die Grenzen der Thermosensibilität der Symbionten von *C. granaria* und *C. oryzae*. Die bisherigen Untersuchungen zeigten die degenerativen Prozesse auf, die sich bei 35° C an den intrazellularen Symbionten beider *Calandra*-Arten einstellen. Mit dem positiven Resultat der Temperaturversuche ergaben sich zwei weitere Fragen von Bedeutung, die unbedingt einer Klärung bedurften:

1. Welche Temperaturbereiche wirken noch schädigend auf die Symbionten?
2. Wie verhalten sich die Tiere und ihre Einmieter bei Temperaturen über 35° C.

Die Versuche hierzu gestalteten sich einfach. In einer ersten Serie war die untere Temperaturgrenze zu ermitteln, welche auf die symbiontischen Mikroorganismen beider Arten keinen nachteiligen Einfluß mehr ausübt. Anschließend mußte der Mycetomaufbau und Infektionsgrad der F₁-Generation solcher Versuchstiere untersucht werden, die verschieden lang bei schrittweise erhöhten Temperaturen gehalten worden waren.

Als untere Temperaturgrenze, die bei *C. granaria* in keiner Weise mehr schädigend auf die Symbionten wirkt, wurde 30° C ermittelt. Sie

liegt 2° über dem Optimum der Entwicklungsgeschwindigkeit (ANDERSEN 1934). Die weitere Erhöhung der Temperatur auf 32° C bewirkte bereits eine grundlegende Umgestaltung der Mycetome und ihrer Besiedelungsdichte.

Die Sterblichkeitsquote betrug bei diesem Versuch, entsprechend den früheren Ergebnissen, etwa 50—60 %; die überlebenden Tiere verhielten sich jedoch nach 2 Monaten noch völlig normal. Nach 65tägigem Aufenthalt bei 32° C wurden die Käfer in optimale Bedingungen zurückgegeben. Da die Legetätigkeit keine Unterbrechung erfahren hatte, schritten die Tiere nach Abschluß des Versuchs im gewohnten Milieu sofort zur Ablage von entwicklungsfähigen Eiern. Um eine gute Vergleichsmöglichkeit mit der Wirkung von 35° C zu erhalten, wurde, wie in jener Versuchsserie, nach 17 und 30 Tagen eine Anzahl von Tieren in optimale Bedingungen zurückgegeben. Die Nachkommen dieser Tiere kamen ebenfalls zur Untersuchung.

Unter den erwähnten Temperaturbedingungen genügt bereits ein 17tägiger Aufenthalt für die weitgehende Verminderung des Bakterienbestandes. Die heranwachsenden Larven enthalten Mycetome, welche nur mehr eine unbedeutende Größe besitzen, jedoch nicht ganz den geringen Umfang vollkommen steriler Bakterienwohnstätten zeigen. Im Plasma jeder Mycetocyte sind einige lange, kettenförmige Mikroorganismen feststellbar, die sich schlecht tingieren und infolge der Färbbarkeit des Plasmas larvaler Bakterienzellen von *C. granaria* nur schwer nachweisbar sind. An der Bakteriennatur der fädigen Elemente besteht kein Zweifel, und nach den bisherigen Erfahrungen bedeutet das mäßige Tinktionsvermögen zusammen mit dem kettenförmigen Aufbau volle Funktionstüchtigkeit. Die Temperatur bewirkte nach 17 Tage dauern dem Aufenthalt bei 32° C nicht die restlose Ausschaltung der Symbionten, wie dies bei 35° C bereits der Fall ist. Zu erwarten war nun, daß der weniger durchgreifende Einfluß der niedrigeren Temperatur durch eine Verlängerung der Wärmebehandlung kompensiert wird. Überraschenderweise enthalten die Mycetome der Nachkommen jener Versuchstiere, welche 30 Tage bei 32° C lebten, die gleichen fadenförmigen Mikroorganismen. Auch die F₁-Generation der 65 Tage lang mit Wärme behandelten Kornkäfer weist in den larvalen Mycetomen Bakterien auf. Sie haben im Vergleich zum Infektionsgrad der ersten und zweiten Versuchsgruppe sogar zugenommen und verursachen eine leichte Volumenvergrößerung der Mycetome. Vermutlich ging die überwiegende Mehrzahl der Bakterien bei 32° C zugrunde, während einige eine beschränkte Thermoresistenz besaßen. Die überlebenden Mikroorganismen vermehrten sich bereits in geringem Maße bei der höheren Temperatur, so daß die später unter optimalen Bedingungen abgelegten Eier stärker infiziert werden konnten.

Die gleichen Versuche wurden auch mit *C. oryzae* ausgeführt. Die in Schnittserien untersuchten Nachkommen der 3 Versuchsgruppen enthielten Mycetome von üblichem Umfang und mit unverminderter Bakteriensubstanz. Erst eine weitere Erhöhung der Temperatur auf 34° C ließ die Thermosensibilität der Symbionten von *C. oryzae* augenscheinlich werden. Nur ein ausreichend langer Aufenthalt bei 35° C bietet jedoch die Gewähr für die vollkommene Schädigung der Mikroorganismen, welche ihre Degeneration und die Sterilität der Nachkommen zur Folge hat.

Im Vergleich zu *C. granaria* liegt bei *C. oryzae* die Temperaturgrenze um 2° höher. Dies ist ein weiteres charakteristisches Merkmal, durch das sich die Symbionten von *C. oryzae* von denen der verwandten Art unterscheiden. In entscheidendem Maße trägt das höhere Temperaturmaximum der *C. oryzae*-Symbionten zur Festigung des Bündnisses bei. Die Reiskäfer vermögen sich daher über längere Zeit in Temperaturbereichen aufzuhalten, in denen der Mikroorganismenschatz der Kornkäfer bereits schwerste Schäden, wenn nicht gar vollkommene Degeneration erleiden würde. Trotz der unterscheidenden Merkmale besteht wohl kein Zweifel an dem gemeinsamen Ursprung der Bakterienstämme von *C. granaria* und *C. oryzae*. Erst sekundär haben sie weitergehende Differenzierungen erfahren. Auch die geringere Temperaturempfindlichkeit der Reiskäfersymbionten stellt eine nachträglich erworbene Eigenschaft dar. Die Ergebnisse des soeben geschilderten Versuchs mit *C. granaria*, bei dem die Bildung eines Bakterientyps mit beschränkter Thermoresistenz zu beobachten war, geben Hinweise, wie es zu der thermoresistenteren Bakterienform von *C. oryzae* gekommen sein mag. Die wärmeempfindlicheren Mikroorganismen wurden vermutlich durch mäßig erhöhte Temperaturen ausgemerzt. So besteht der heutige Symbiontenstamm von *C. oryzae* aus Bakterien, welche die größere, den *Calandra*-Symbionten überhaupt mögliche, Thermoresistenz besitzen.

Im Laufe der Versuche bei 32° C konnte eine weitere bemerkenswerte Beobachtung gemacht werden, die nach den Angaben anderer Autoren (PAVLAKOS 1934, ANDERSEN 1934) sowie nach meiner eigenen früheren Feststellung völlig überraschte. Trotz der höheren Temperatur fand die Legetätigkeit der Weibchen beider Arten keine Unterbrechung, und die abgelegten Eier entwickelten sich bei 32° C zu Larven, die sich verpuppten und normale, vollwertige Käfer ergaben. Zwischen beiden Arten bestand allerdings eine Differenz in der Entwicklungsgeschwindigkeit, wie sie auch bei optimaler Temperatur beobachtet wurde: 32 Tage nach Versuchsbeginn verließen bereits die Tiere von *C. oryzae* die Körner, während bei *C. granaria* die jungen Käfer erst nach 47 Tagen außerhalb der Körner erschienen. Betrachten wir in diesem Zusammenhang noch einmal Tabelle 2: Für *C. oryzae* finden wir bei 33° C und 70% RH nur

eine beschränkte Entwicklungsfähigkeit. Erst bei 30° C und einem relativen Luftfeuchtigkeitsgehalt von 40—50 % stellten sich lebende Imagines ein, deren Weiterzucht bei optimalen Bedingungen möglich war. Allerdings blieb dabei der Symbiontenbestand unbeeinflusst. Die obige Kombination von 32° C und 100 % RH liegt im Hinblick auf die Temperatur um 2° höher, und dennoch konnten sich Larven bis zu fertigen Käfern entwickeln. Offensichtlich beruht die Entwicklungsfähigkeit der Eier auf dem extrem gesteigerten Luftfeuchtigkeitsgehalt.

Von größter Wichtigkeit war die Frage nach dem Zustand der Mycetome der bei 32° C heranwachsenden Generation. Zumindest für die Kornkäfer war mit einer Veränderung der symbiontischen Organe zu rechnen, da die Temperaturgrenze der Bakterien von *C. granaria* ja bei 32° C liegt.

In allen Kornkäferlarven sind die Bakterienorgane stark geschrumpft und in den meisten Fällen nicht größer als sterile Mycetome. In manchen Zellen finden sich aber noch Bakterien von unterschiedlicher Länge und schlechter Färbbarkeit. Nicht selten enthält das Plasma auch fadenförmige Mikroorganismen, welche die Farbe gut aufnehmen und in ihrer Lage deutlich zu verfolgen sind. Kräftig färben sich auch die in geringer Zahl vorhandenen fladenartigen Gebilde im Zellinnern, die wohl aufgeknäulte, degenerierte Bakterien darstellen. Das stark atrophiierte Mycetom einer der untersuchten Larven besteht im Vergleich zu denen der übrigen aus relativ großen Zellen mit chromatinreichen Kernen. Im Plasma der meisten Bakteriocyten finden sich neben den zahlreich vertretenen, gut nachweisbaren Symbionten voluminöse, vielgestaltige Bakterienknäule, welche fast die Größe der Kerne erreichen. Sie färben sich mit Eisenhämatoxylin tief schwarz an. Die isolierte Lage des Mycetoms verhinderte wohl die rasche Elimination des Bakterienschutts, der ja bei den Imagines einfach in den Darm ausgestoßen wird.

Überraschenderweise zeigen die Symbionten der bei 32° C heranwachsenden Larven von *C. oryzae* nicht jene Wärmeunempfindlichkeit, die für die Bakterien in den Ovariolenendkammern der Imagines bezeichnend ist. Stets sind die Bakterienwohnstätten dieser Larven bedeutend kleiner als bei der Aufzucht unter optimalen Bedingungen, jedoch größer als die Mycetome der unter den gleichen Verhältnissen heranwachsenden Larven von *C. granaria*. Die Zellen beherbergen reichlich funktionstüchtige Symbionten. Infolge des geringeren Bakterienbestandes der Zellen sind ihre Membranen, die bei normaler Besiedelung meist vollkommen verdeckt werden, deutlich zu erkennen. Offenbar reicht die nur geringfügig erhöhte Temperatur nicht aus, um die wenigen im Ei vorhandenen Mikroorganismen abzutöten, sondern wirkt nur hemmend auf die Teilungsrate der Bakterien. Ein Anwachsen der Mycetome zur normalen Größe wird dadurch verhindert.

Es verbleibt uns nun noch, das Verhalten der Imagines und der Symbionten beider Arten im Temperaturbereich über 35° C zu betrachten. Bereits bei 35° C zeigten die Käfer von *C. granaria* und *C. oryzae* eine große Wärmeempfindlichkeit. Daher scheint es nicht verwunderlich, daß mit einer weiteren Erhöhung der Temperatur noch ungünstigere Bedingungen geschaffen wurden. Nach 10tägigem Aufenthalt bei 36° C waren von 120 Kornkäfern nur noch 70 am Leben, und ihr Verhalten ließ es angebracht erscheinen, sie wieder in optimale Bedingungen zurückzugeben. In kurzer Zeit gingen hier zahlreiche weitere Käfer ein, und schließlich blieben nur noch 8 am Leben, die sich erholten und nach einer längeren Pause erneut mit der Legetätigkeit begannen. Ihre Nachkommen waren restlos steril.

Schließlich wurde noch die Lebensfähigkeit der Kornkäfer bei 38° C geprüft. Die überwiegende Mehrzahl der eingesetzten Tiere war nach 48stündigem Aufenthalt tot, der Rest starb im Laufe des nächsten Tages.

Für *C. oryzae* ist bereits mit 35° C die Grenze der Erträglichkeit erreicht. Bei höheren Temperaturen sind die Reiskäfer, obwohl sie Bewohner wärmerer Gebiete sind, den Kornkäfern unterlegen. In den Versuchen starben bei 37° C trotz höchstem Luftfeuchtigkeitsgehalt im Laufe von 3 Tagen mehr als $\frac{2}{3}$ der 100 Versuchstiere, die übrigen an den beiden nächsten Tagen. Bei 38° C waren nach 3 Tagen alle Reiskäfer tot.

Bisher betrachteten wir lediglich die symbiontischen Einrichtungen der ersten Filialgeneration von wärmebehandelten Versuchstieren, ohne näher auf die Verhältnisse bei den folgenden Generationen einzugehen. Hierüber sei nun einiges gesagt.

Vollkommen symbiontenfreie Käfer beider Arten können den Verlust der Mikroorganismen nicht rückgängig machen. Ihre Nachkommen besitzen an Stelle der umfangreichen Mycetome nur mehr kleine Zellgruppen, welche die prospektiven Bakterienwohnstätten darstellen. Eine Reinfektion über den Kot symbiontenhaltiger Tiere findet nicht statt. Sie ist auch nicht zu erwarten, da die Bakterien, welche bei jungen Imagines in das Lumen des Darmes übertreten, stets hochgradig degeneriert sind.

Anders liegen die Verhältnisse bei jenen Tieren, welche als Larven in den Myctomen noch distinkt gefärbte Kurzstäbchen enthalten. Wohl ist während der Larvalentwicklung keine Vermehrung dieser Formen zu beobachten, doch unterbleibt auch die weitere Degeneration. Bei den adulten Weibchen sind die gleichen Gebilde auch in den Endkammern der Ovariolen nachweisbar. In der zweiten Generation sind bereits deutliche Anzeichen dafür zu erkennen, daß diese temperaturgeschädigten Mikroorganismen ihre Funktionstüchtigkeit wieder erlangen. Die Symbionten, welche noch gute Färbbarkeit besitzen, beginnen wieder zu

Ketten auszuwachsen und die Zellen der Mycetome in stärkerem Maße zu besiedeln. In den folgenden Generationen nimmt die Zahl der Bakterien weiter zu, und vermutlich wird im Laufe der Zeit die normale Mycetomgröße wieder erreicht. Der übliche Zustand wird bei *C. oryzae* rascher als bei *C. granaria* hergestellt, da bei der ersten Art die überlebenden Bakterien noch uneingeschränktes Teilungsvermögen besitzen, so daß bereits in der ersten Filialgeneration gut besiedelte Mycetome zustande kommen.

4. Das Verhalten der Symbionten und ihrer Wirte bei niederen Temperaturen

Der geringfügige Unterschied der Temperaturmaxima von Wirt und Symbionten bei *C. granaria* und *C. oryzae* ermöglichte die restlose Ausschaltung der intrazellularen Bakterien. Es lag daher die Frage nahe, ob auch die Temperaturminima von Wirt und Einmiethern verschieden sind und eine Beeinflussung der Konsortien gestatten.

Nach BACK u. COTTON (1924) sind für *C. oryzae* Temperaturen unter 0°C von außerordentlich nachteiligem Einfluß und führen bald den Tod der Tiere herbei, während *C. granaria* etwas länger zu widerstehen vermag. Da die Dauer des Aufenthaltes für die Schädigung der Mikroorganismen von großer Bedeutung ist, schienen diese Temperaturen nicht mehr zweckmäßig. Die folgenden Untersuchungen wurden daher bei $+4^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Bei dieser Temperatur ist das Aktivitätsminimum beider *Calandra*-Arten bereits unterschritten, so daß kurze Zeit nach Versuchsbeginn die Korn- und Reiskäfer in Kältestarre fielen. In Abständen von 5 Tagen wurde jeweils eine gewisse Anzahl von Tieren in optimale Bedingungen zurückgegeben.

Nach 5tägigem Aufenthalt kamen alle Reiskäfer wieder zu voller Funktionstüchtigkeit, während auf ein 10 Tage langes Verweilen bei $+4^{\circ}\text{C}$ hin die Imagines bereits starke Schäden davongetragen hatten und in den nächsten 24 Std ausnahmslos eingingen. Den 15tägigen Aufenthalt vermochte kein Versuchstier von *C. oryzae* zu überstehen. Größere Widerstandsfähigkeit zeigten dagegen die Kornkäfer, welche nach 40 Tage dauernder Behandlung mit $+4^{\circ}\text{C}$ im gewohnten Milieu noch für einige Stunden Aktivität erlangten. Aber lediglich die Kornkäfer blieben am Leben, welche bis zu 25 Tagen der Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ ausgesetzt waren. Die Nachkommen dieser Tiere sowie diejenigen der Reiskäfer, welche 5 Tage bei $+4^{\circ}\text{C}$ lebten, wurden histologisch untersucht.

In der niederen Temperatur zeigen die Symbionten der Korn- und Reiskäfer größere Widerstandsfähigkeit. Sie überstehen den längsten Aufenthalt bei $+4^{\circ}\text{C}$, der ihren Wirten noch zuträglich ist.

5. Versuche mit antibiotischen Wirkstoffen. Aureomycin und Terramycin

Die anfänglichen Mißerfolge bei den Temperaturversuchen veranlaßten mich, gleichzeitig weitere Experimente zur Sprengung der symbiontischen Bündnisse von *C. granaria* und *C. oryzae* zu unternehmen. Die enge Verbindung der Partner bietet aber kaum erfolgversprechende Ansatzpunkte zur Auflösung der Gemeinschaften. Andere, bereits mit positivem Erfolg angewandte Methoden sind im Hinblick auf die *Calandra*-Symbiose völlig ungeeignet, wie etwa die Oberflächensterilisation von Eiern, mit der KOCH (1933) *Sitodrepa panicea* künstlich symbiontenfrei machen konnte, oder operative Eingriffe nach der Technik von ASCHNER und RIES (1933). Aussichtsreich schien vor allem noch die Behandlung der Tiere mit antibiotischen Wirkstoffen zu sein. Bisherige Versuche an symbiontenhaltigen Insekten lassen erkennen, daß mit Hilfe dieser Hemmstoffe auch auf die bakterien- oder hefeartigen Einmieter eine Wirkung zu erzielen und zum Teil ihre vollkommene Ausschaltung möglich ist. Auch *C. granaria* und *C. oryzae* waren bereits Objekte derartiger Untersuchungen (MUSGRAVE u. MILLER 1951). Angehörige der beiden Tierarten wurden auf terramycingetränkten Weizenkörnern gehalten, und aus der verschiedenen Sterblichkeitsrate der in den behandelten Körnern aufwachsenden Larven schlossen die Autoren auf die Lebensnotwendigkeit der Symbionten. Leider sind histologische Untersuchungen über den Infektionsgrad der larvalen Bakterienorgane unterblieben, so daß keinerlei Aussagen über eine tatsächliche Verminderung der intrazellulären Mikroorganismen gemacht werden können. Diese Tatsache ließ ebenfalls eine eingehende Untersuchung für angebracht erscheinen.

Von den zahlreichen Antibiotika waren die wirksamsten auszuwählen. Sie sollten neben einem breiten Wirkungsspektrum geringe Toxizität besitzen und die Bildung resistenter Stämme nicht befürchten lassen. Zwei Antibiotika, die zur Zeit zu den gebräuchlichsten therapeutischen Mitteln gehören, schienen vor allem geeignet zu sein: *Aureomycin*, das aus dem Kulturfiltrat von *Streptomyces aureofaciens* gewonnen wird, und *Terramycin*, welches auf *Streptomyces rimosus* zurückzuführen ist. Beide erweisen sich sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien als hochwirksam, und die sekundäre Zunahme der Widerstandsfähigkeit der mit ihnen behandelten Keime ist im Vergleich zu anderen Antibiotika äußerst gering.

In 4 getrennten Versuchsserien wurden Korn- und Reiskäfer mit Aureomycin und Terramycin behandelt. Zur Vorbereitung der Versuche wurden je 10 mg¹ Aureomycin² und Terramycin³ in 25 ml Aqua dest.

¹ Die Angaben beziehen sich auf das Gesamtgewicht einschließlich der indifferenten Zusätze.

² Aureomycin Crystalline HCl. Hersteller: Lederle Laboratories Division American Cyanamid Company, New York, NY.

³ Cryst. Terramycin HCl. Hersteller: Chas. Pfizer & Co. Inc. New York.

gegeben und mit 2 ml $\frac{1}{10}$ n HCl versetzt. Mit dieser gelb gefärbten Flüssigkeit wurde quer halbierter, entspelzter Hafer 24—30 Std lang getränkt und anschließend bei 35—40° C getrocknet. Die präparierten Körner übten auf die Legetätigkeit der Weibchen keinen größeren hemmenden Einfluß aus, und die abgelegten Eier entwickelten sich trotz der geringeren Korngröße bis zu fertigen Käfern. In einigen Fällen bohrten sich an den Schnittflächen Larven durch, welche auf fortgeschrittenem Entwicklungsstadium auch außerhalb der Körner ihre Metamorphose durchführen konnten. Vorteilhaft war es, die Luftfeuchtigkeit nur bei etwa 60—65% RH zu halten, da gerade die mit Antibiotika getränkten Körner besonders gern von manchen Schimmelpilzen befallen werden. Bei höherem Luftfeuchtigkeitsgehalt brachte das dichte Myzelium solcher Pilze in kurzer Zeit alle Tiere zum Absterben. Da der geschälte Hafer von allen Getreidearten die beste Durchträngungsfähigkeit besitzt, wurde auch für *C. oryzae* diese Spezies gewählt, obwohl die Reiskäfer gegen sie eine gewisse Abneigung zeigen. Mit dem Gehalt an antibiotischen Stoffen steigert sich die Abneigung noch, wie die im Vergleich zu *C. granaria* äußerst geringe Bohrtätigkeit und zögernde Eiablage erkennen ließ. Zur Untersuchung kamen Larven, die ihre bisherige Entwicklung in den präparierten Körnern durchgemacht, und ferner Versuchstiere, welche sich von den aureomycin- und terramycingetränkten Getreidestücken genährt hatten.

Bei *C. granaria* sprechen die symbiontischen Mikroorganismen sowohl auf Aureomycin als auch auf Terramycin an. Alle untersuchten Larven besitzen stark atrophiierte Mycetome, die aber noch nicht vollkommen symbiontenfrei sind. Ihr Umfang macht nur etwa den 4.—5. Teil der gewohnten, den Entwicklungsstadien entsprechenden Größe aus. Die wenigen Zellen enthalten von Objekt zu Objekt verschiedene, zum Teil noch stattliche Mengen von fadenartigen und mäßig färbbaren Symbionten. Häufig sind einzelne Bakterien zu sehen, die sich mit HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin tief schwarz anfärben und den Aufbau klar erkennen lassen. Es sind Ketten aus deutlich voneinander abgesetzten, gleichgroßen Teilstücken, die immer breiter als die übrigen, sich weniger gut tingierenden Mikroorganismen und oft an einem oder auch an beiden Enden knotig aufgetrieben sind. Die vorzügliche Färbbarkeit dieser Mikroorganismen zeigt wohl ein fortgeschrittenes Degenerationsstadium an. Mitunter erscheint die gesamte Bakteriensubstanz eines Mycetoms nicht mehr fädig, sondern grieselig und verteilt sich ungleichmäßig auf das Innere der relativ großen Zellen.

Auch die Larven von *C. oryzae* reagierten in ganz charakteristischer Weise. Sowohl bei Aureomycin- als auch bei Terramycinbehandlung besaß die Hälfte der untersuchten Larven normale Mycetome mit prall besiedelten Bakterienzellen, während die übrigen Larven keinerlei Symbionten mehr in den Bakterienwohnstätten beherbergten. Die

Atrophie der sterilen Mycetome war zum Teil größer als bei den Temperaturversuchen.

Stets sind die unbesiedelten Mycetome durch ein zartes Hüllgewebe von den übrigen Organen geschieden. Die Kerne der Zellen im Mycetom sind von runder bis leicht ovaler Gestalt und größer als in normal besiedelten Bakterienzellen.

Die unterschiedliche Wirkung der Antibiotika ist sicherlich in großem Maße von dem physiologischen Zustand des Wirtsorganismus abhängig, der anscheinend nicht bei allen Tieren gleich ist. Außerdem unterscheiden sich die symbiontenhaltigen Insekten grundlegend von anderen Lebewesen, welche mit Krankheitskeimen infiziert sind. In diesen Fällen unterstützen die körpereigenen Abwehrstoffe und Phagocyten die Vernichtung der eingedrungenen Keime. Bei den Symbiontenträgern lassen die Wirte den Mikroorganismen alle erdenkliche Förderung angedeihen, und die antibiotischen Wirkstoffe müssen über den begünstigenden Einfluß der Partner hinweg ihre wachstumshemmende Funktion geltend machen. Die zu beobachtende Verminderung der Symbiontensubstanz in den Mycetomen der Larven von *C. granaria* sowie die völlige Ausschaltung der Mikroorganismen bei den Jugendformen von *C. oryzae* ist daher ausschließlich die Wirkung der Antibiotika. Die Larven der Reiskäfer, welche trotz der Behandlung mit Aureomycin und Terramycin normale Mycetome aufbauen konnten, geben erneut einen Hinweis auf die besondere Natur des Bakterienstammes von *C. oryzae*, dem wohl allgemein ein größeres Resistenzvermögen eigen ist.

In den folgenden Zeilen sei die Wirkung geschildert, welche die Antibiotika auf die Symbionten der adulten Tiere ausüben. Aus den 4 Versuchsserien wurden Tiere präpariert und histologisch untersucht, die sich 10 bzw. 32 Tage von den behandelten Getreidekörnern ernährt hatten.

Die Anzahl der bakterienführenden Zellen im Mitteldarm der erwachsenen Tiere unterliegt starken individuellen Schwankungen. Nach 10 Tage langer Behandlung zeigen die Versuchstiere zum Teil noch gut besiedelte oder bereits völlig sterile Mitteldarmabschnitte. Nach 32 Tagen finden sich nur in Ausnahmefällen in den Darmzotten noch geringfügige Reste der früheren Bakteriensubstanz. An diesem keineswegs überraschenden Vorgang sind die bakteriziden Wirkstoffe jedoch nur bedingt beteiligt; denn auch ohne jeden äußeren Einfluß werden in den jungen Imagines die Bakterien des Mitteldarms abgebaut. Die Wirkung der Antibiotika auf normale, funktionstüchtige *Calandra*-Symbionten konnte nur bei jenen Formen klar zum Ausdruck kommen, die in den Imagines eine bevorzugte Stellung einnehmen, bei den Bakterien in den Ovarialenendkammern.

Nach 10 Tage dauerndem Aufenthalt der Käfer auf den präparierten Haferkörnern zeigen die Endkammerabschnitte der Ovariolen den normalen histologischen Bau. Die fadenförmigen und mäßig färbbaren Symbionten erfüllen die Germarien vollständig.

Auch nach 32 Tagen sind noch weibliche Imagines vorhanden, deren Symbiontenschatz in den Ovariolen keine Einbuße erlitten hat. Die Mehrzahl von ihnen läßt jedoch in den bakterienführenden Endkammerabschnitten einen oder mehrere, deutlich wahrnehmbare Degenerationsherde von typischer Gestaltung erkennen. Das Zentrum der Endkammern, das auch in den Versuchen mit erhöhter Temperatur den Ausgangspunkt für den Abbau der geschädigten Mikroorganismen bildete, stellt meist den Ort dar, von dem die Auflockerung der Symbiontenmasse ausgeht. In weniger erfolgreichen Fällen beschränken die Hemmstoffe die Teilung der Bakterien nur in bestimmten, regional begrenzten Zonen. Diese enthalten eine geringe Zahl von Mikroorganismen und erscheinen als helle Felder inmitten der Germarien. Entfalten die Antibiotika eine größere Wirkung, so treten in den Reaktionszonen die restlichen Bakterien zu stärker färbbaren Klumpen zusammen. Gleichzeitig entstehen Vakuolen von unterschiedlicher Größe.

Die Versuche ließen deutlich erkennen, daß das Wirkungsspektrum von Aureomycin und Terramycin die Symbionten von *C. granaria* und *C. oryzae* umfaßt. Der wenig durchschlagende Erfolg beruht offensichtlich nicht auf dem Resistenzvermögen der Mikroorganismen, sondern auf der zu geringen Konzentration der Antibiotika. Aus diesem Grunde schien eine zweite Versuchsserie angebracht, bei der Getreidekörner mit größerer Wirkstoffdosis verwendet werden sollten.

Je 50 mg Aureomycin und Terramycin wurden in 25 ml destilliertes Wasser gegeben und mit 2 ml $\frac{1}{10}$ n HCl versetzt. Die Weiterbehandlung erfolgte wie bei den obigen Versuchen. In histologischen Schnittserien kamen wiederum die sich entwickelnden Larven und die Versuchstiere selbst zur Untersuchung.

Nach 5 Tagen sind die Endkammern der Imagines noch unverändert. Doch schon nach weiteren 5 Tagen ist das Bild anders geworden. Die Symbionten, deren Zahl sich bedeutend verringert hat, konzentrieren sich auf die Außenbezirke der Endkammern und scharen sich um die größeren, relativ wenigen Nährzellkerne. Gleichzeitig entstehen bevorzugt im Zentrum der Germarien zahlreiche Vakuolen von unterschiedlicher Größe (Abb. 15a). Die Ausbildung der Vakuolen ist zu diesem Zeitpunkt bei den mit Aureomycin behandelten Versuchstieren weiter fortgeschritten als bei den auf terramycingetränkten Körnern lebenden Käfern. Die Gestalt der Mikroorganismen läßt sich auf Grund der Schnittpräparate nur schwer definieren, da die Färbbarkeit der Bakterien im Gegensatz zu den Versuchen mit erhöhter Temperatur nicht

zugenommen hat. Jedoch ist feststellbar, daß der fadenartige Charakter der Symbionten merklich zurücktritt und die einstmals langen Ketten stark verkürzt erscheinen.

Nach 32 Tage langem Verweilen auf den mit Aureomycin und Terramycin getränkten Haferkörnern ist in den Ovariolenendkammern eine weitere starke Verminderung der Bakterien zu beobachten. Die Vakuolen haben in der Zwischenzeit an Zahl und Größe zugenommen und sind bereits in den Randzonen nachweisbar. Die Symbionten verteilen sich auf einige zusammenhängende Bezirke in den äußeren Teilen der Endkammern. Die bakterienführenden Abschnitte scheinen von einer grauen, grießeligen Masse erfüllt zu sein, die lediglich auf Grund der bekannten normalen Bilder noch als bakterienhaltig angesprochen werden kann (Abb. 15b).

Da die heranwachsenden Larven in den behandelten Körnern sich inzwischen verpuppt hatten und die Puppen fast schlüpfreif geworden waren, wurden die Versuchstiere auf gewöhnliche Körner zurückgegeben. Die Umstellung der mit Antibiotika behandelten Käfer auf übliche Kost ging glatt vonstatten, und schon bald zeigten sich auch in diesen Körnern junge Larven. Lediglich 2 der Larven, welche sich im Anschluß an die Behandlung der Käfer mit Aureomycin in normalen Körnern entwickelt hatten, besaßen sterile Mycetome. Alle übrigen konnten die herkömmlichen voluminösen Bakterienorgane aufbauen. Das läßt den Schluß zu, daß trotz der durchgreifenden Gestaltwandlungen, welche die Bakterienreste der Käfer am Ende der Behandlung zeigten, sie ihre volle Funktionstüchtigkeit bewahrt hatten. Unmittelbar nach Beendigung des hemmenden Einflusses konnten sie sich wieder ungehindert vermehren.

Wie schon angedeutet, konnten sich auch in den Körnern mit erhöhter Wirkstoffdosis die Eier der Korn- und Reiskäfer entwickeln. Von jeder Versuchsgruppe wurde $\frac{1}{2}$ Dutzend Larven wahllos aus den Körnern präpariert und histologisch untersucht, um die Wirkung der Antibiotika auf den larvalen Symbiontenbestand zu prüfen.

Das eindeutigste Ergebnis offenbaren die Larven der Reiskäfer, welche sich bisher von terramycinhaltiger Kost ernährt hatten. Alle Larven besitzen an Stelle der großen Mycetome nur mehr kärgliche Reste, die der Aufmerksamkeit leicht völlig entgehen. Symbionten sind nicht mehr vorhanden. Wohl sind die sterilen Mycetome von *C. oryzae*-Larven immer kleiner als die entsprechenden sterilen Organe bei *C. granaria*, doch ist die geringe Größe und Zellenzahl in den hier untersuchten Fällen überraschend. In keiner anderen Versuchsserie, auch nicht während der Temperaturversuche, war eine ähnlich starke Atrophie der Bakterienorgane zu beobachten. Die verödete Zellgruppe liegt am gewohnten Ort und enthält durchschnittlich bis 10 großkernige, vakuolenreiche und plasmaarme Zellen.

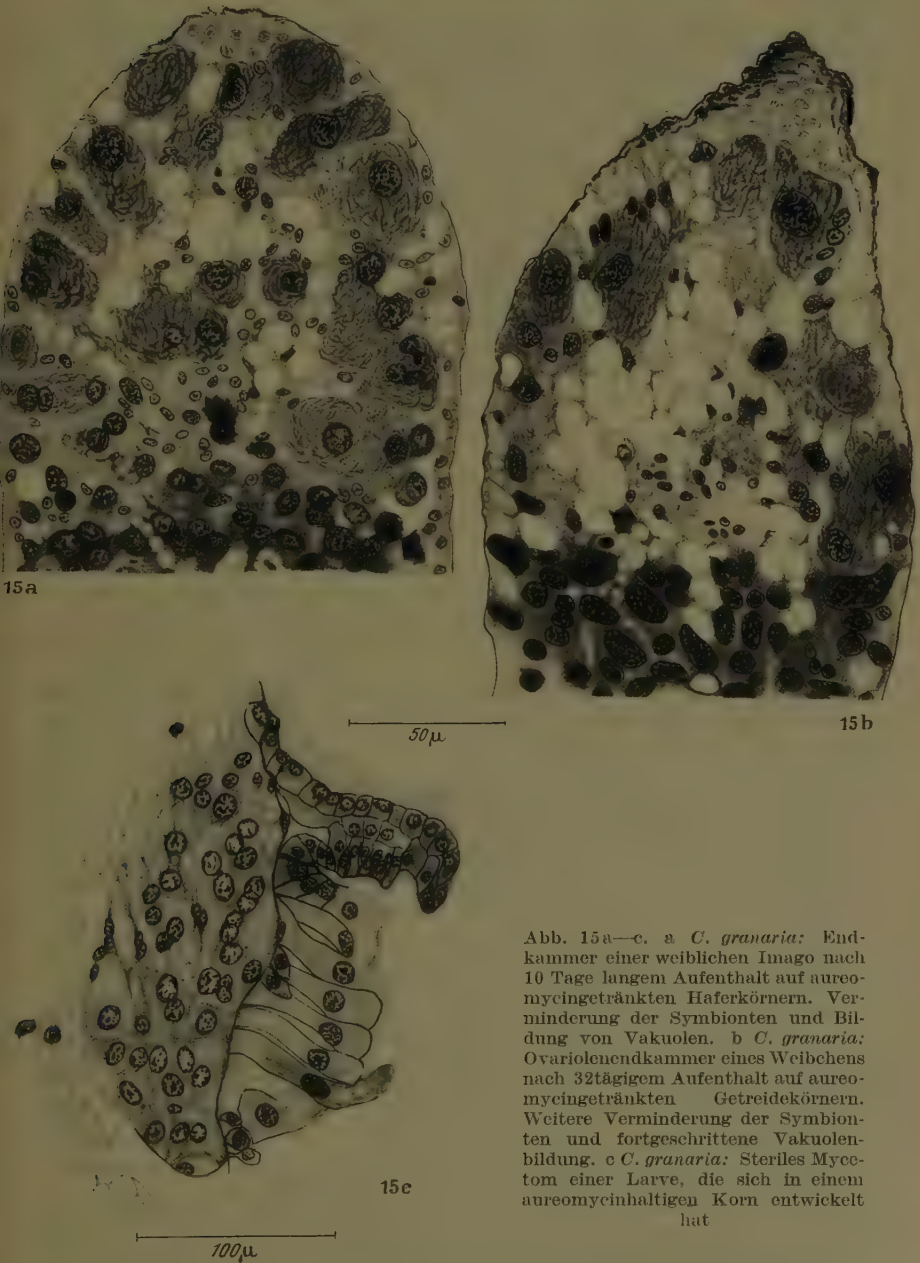


Abb. 15a—c. a *C. granaria*: Endkammer einer weiblichen Imago nach 10 Tage langem Aufenthalt auf aureomycingetränkten Haferkörnern. Verminderung der Symbionten und Bildung von Vakuolen. b *C. granaria*: Ovariolenendkammer eines Weibchens nach 32tägigem Aufenthalt auf aureomycingetränkten Getreidekörnern. Weitere Verminderung der Symbionten und fortgeschrittene Vakuolenbildung. c *C. granaria*: Steriles Mycetozom einer Larve, die sich in einem aureomycinhaltigen Korn entwickelt hat

Ähnlich sind die Resultate der Untersuchungen an Reiskäferlarven, welche in aureomycingetränkten Körnern aufgewachsen sind. Von allen präparierten Larven zeigt lediglich eine in einer Zelle des stark

geschrumpften Mycetoms einige Mikroorganismen. Sie sind von kurzer, gekrümmter Gestalt und stellen vermutlich Kümmerformen dar.

Etwas anders geartet ist die Situation bei den Larven der Kornkäfer. Auch bei dieser *Calandra*-Art bewirken beide Antibiotika stets eine außerordentlich starke Reduktion des larvalen Symbiontenbestandes. Auf Abb. 15c ist das Mycetom einer Larve dargestellt, die in einem aureomycinhaltigen Haferkorn aufgewachsen und bereits völlig steril geworden ist. Das unbesiedelte Bakterienorgan repräsentiert sich als eine für *C. granaria* relativ vakuolenreiche Zellgruppe.

Die Mehrzahl der untersuchten Larven ist jedoch noch nicht vollkommen symbiontenfrei. Meist sind im Mycetom eine oder zwei Zellen nachweisbar, welche einige verkümmerte Mikroorganismen enthalten. Nun ist zu bedenken, daß die Präparation der Larven meist auf mittlerer Altersstufe erfolgt ist, während die Antibiotika bei den übrigen Larven bis zum Abschluß der Entwicklung weiterwirken konnten. Tatsächlich zeugten die erwachsenen Käfer, welche ihre gesamte Entwicklung in präparierten Körnern durchgeführt hatten, in normalen, unbehandelten Medien fast ausnahmslos sterile Nachkommen. Somit ist auch für *C. granaria* die vollständige Ausschaltung der symbiontischen Mikroorganismen durch Aureomycin und Terramycin als gesichert anzunehmen.

Die Wirkung der Antibiotika macht sich in der Larvalentwicklung am stärksten bemerkbar und führt bei *C. oryzae* schon bald zum Tod der Symbionten, während bei *C. granaria* manche Bakterien etwas länger widerstehen. Ein zweiter Entwicklungsgang in vorbehandelten Körnern führt auf jeden Fall auch hier zum Ziel. Die Entscheidung, welches der beiden Antibiotika die größere hemmende und bakterizide Wirkung besitzt, ist schwer zu fällen, und die Ergebnisse berechtigen nicht, einem von beiden den Vorzug zu geben.

Die bereits in den Schnittpräparaten sichtbaren Veränderungen der in den Ovariolenenkammern lokalisierten Symbionten gaben die Veranlassung, den Formwandel der Bakterien, der sich mit dem Einfluß der Antibiotika einstellt, eingehender zu untersuchen. Diese morphologischen Veränderungen der *Calandra*-Symbionten überraschen keineswegs, da zahlreiche andere Mikroorganismen auf die Behandlung mit antibiotischen Therapeutika hin ebenfalls atypische Wuchsformen ausbilden (BRAUN und Mitarbeiter 1954). Genauere Einzelheiten der fortschreitenden Gestaltveränderungen konnten nur Ausstrichpräparate der behandelten Symbionten erkennen lassen. Nach 10- und 22-tägigem Aufenthalt wurden daher weibliche Kornkäfer präpariert und die Bakterien der Ovariolenenkammern untersucht.

Nach 10 Tage langer Einwirkung von Aureomycin zeigt die Mehrzahl der Bakterien kettenförmige Gestalt. Mitunter sind bereits wenig-

gliedrige Teilstücke oder sogar Einzelglieder zu beobachten. 22 Tage nach Versuchsbeginn hat sich die Zahl der Symbionten noch kaum verändert. Die langen Ketten überwiegen weiterhin; ferner sind Bakterien mit ausgeprägterem Tinktionsvermögen vertreten und Formen, welche die Tendenz zum Aufrollen zeigen.

Diese nur geringen Gestaltveränderungen stehen in keinem Verhältnis zu den Umwandlungen, die sich bei der Behandlung mit Terramycin einstellen. Nach 10 Tagen sind auch hier vor allem die langen, schlanken Ketten zu sehen; die Tendenz zum Zerfall in Einzelglieder ist noch nicht sehr ausgeprägt. Ferner sind Typen mit verdickten und gut färbbaren Enden vertreten. Ganz neuartig sind perlschnurförmige Bakterien. Sie sind in regelmäßigen Abständen kugelig aufgetrieben und nehmen die Farbe an diesen Stellen besonders gut auf. Die Gestaltveränderungen der Symbionten machen in der Folge weitere Fortschritte, und nach 22 Tagen zeigen die Bewohner der Endkammern eine verwirrende Vielfalt von Formen. Die normalen kettenförmigen Bakterien sind fast vollständig verschwunden, und der überwiegende Teil stellt Fragmente von unterschiedlicher Größe dar. Manche Mikroorganismen sind stark aufgequollen und färben sich kräftig an. Wieder andere sind an den Enden keulig aufgetrieben. Ferner sind zahlreiche schneckenförmig aufgerollte Mikroorganismen zu sehen, wie wir sie bereits bei den Temperaturversuchen kennengelernt haben. Sie unterscheiden sich von ihnen nur dadurch, daß sie aus kürzeren Ketten aufgebaut sind. Die nach 10 Tagen schon vorhandenen perlschnurartig aussehenden Bakterien sind weiterhin sichtbar.

Solche, von der herkömmlichen Gestalt stark abweichende Wachstumsformen sind auch bei Symbionten von anderen Rüsselkäfern zu beobachten. Die Ursache dürfte dabei ebenfalls ein schädigender Einfluß sein. SCHEINERT (1933) berichtet von *Hylobius abietis*, daß die Symbionten, welche wie bei den meisten anderen Rüsselkäfern mit zunehmendem Alter abgebaut werden, bei der beginnenden Degeneration in verpuppungsreifen Larven typische Veränderungen erleiden. Die gleichfalls fadenförmigen Bakterien rollen sich schneckenförmig ein, andere bekommen an den Enden Anschwellungen, und auch die rosenkranzartigen Formen fehlen nicht. Ähnliches beobachtete BUCHNER (1933) bei *Cryptorrhynchus*.

VI. Das Verhalten der sterilen Bakterienorgane bei Larven und Imagines

Nach Verlust der symbiontischen Mikroorganismen enthalten die Larven beider *Calandra*-Arten stets an gewohnter Stelle noch eine Gruppe von Zellen, die das rudimentäre Mycetom darstellen. Vermutlich ist die Anlage der Bakterienorgane erblich fixiert, und die Bereitstellung der

Zellen erfolgt unabhängig vom Symbiontenschatz. Daraus ergibt sich die Frage, ob in der weiteren Entwicklung der symbiontenfreien Individuen alle Stadien der Bakterienorgane wiederkehren, die den Zyklus (s. S. 562) bei normalen symbiontenhaltigen Tieren ausmachen.

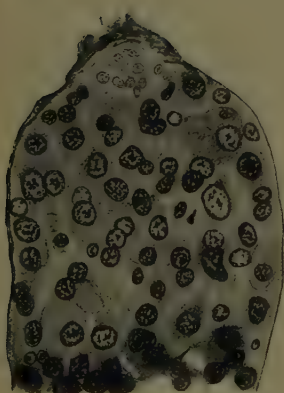
Wenig verbleibt zu sagen über die sterilen Larvalmycetome, da sich alle bisherigen Aussagen über Größe und histologischen Bau steriler Bakterienwohnstätten auf solche Organformen bezogen haben. Hingewiesen sei vor allem auf die Zellteilungen, welche während der Larvalentwicklung in sterilen Mycetomen stattfinden. Bei Larven von *C. granaria* sind sie recht häufig zu beobachten, bei *C. oryzae* dagegen konnte nur in einem einzigen Fall eine Mitose wahrgenommen werden. Vornehmlich bei *C. granaria* erreichen die symbiontenfreien Larvalmycetome größere Ausmaße und zeigen stets Anklänge an die U-Gestalt besiedelter Mycetome. Die symbiontenfreien Mycetome der Reiskäferlarven bleiben im Gegensatz dazu stets sehr klein. Der geringe Umfang beruht sicher auf der nur minimalen Zellvermehrung im Laufe des Larvenwachstums.

Nach abgeschlossener Entwicklung schreiten die Larven zur Verpuppung, und während dieser Zeit vollziehen sich in den besiedelten Mycetomen große umgestaltende Prozesse, die P. BUCHNER (1930) wie folgt beschreibt: „Das unpaare Mycetom gewinnt in alten Larven, sobald die Degeneration des Mitteldarmes begonnen, auf der Ventralseite innigere Fühlung mit dem jetzt auch hier nach hinten auswachsenden, vom Anfangsdarm her gebildeten neuen Mitteldarm, schiebt seine Zellmassen zwischen Muskularis und Darmepithel ein und verteilt sie, indem sie teils nach hinten, teils um den Darm herum rücken, so, daß sie ihn schließlich genauso allseitig umlagern, wie bei Formen mit zirkulären Larvalorganen.“ Ein glücklicher Zufall während der Untersuchungen an normal besiedelten Tieren spielte mir ein Objekt in die Hände, das dieses eindrucksvolle und nur kurze Zeit dauernde Stadium der Einwanderung der infizierten Bakteriocyten in den neu entstehenden Mitteldarm zeigt (Abb. 16a). Die Bildung des imaginalen Mitteldarmes ist bereits weit fortgeschritten, und zwischen den vielgestaltigen, vakuolenreichen Darmzellen und der Muscularis befinden sich die umfangreichen, mit Symbionten dicht besiedelten Bakteriocyten.

Mit dem Übergang zur Metamorphose stellen sich an den sterilen Larven beider Arten die nämlichen Prozesse ein. Große Schwierigkeiten bereitete es, bei symbiontenfreien Larven das der Abb. 16 a entsprechende Stadium zu finden. Entweder erfolgte die Präparation der Puppen zu früh, und das Mycetom war noch völlig kompakt, oder zu spät, und die Darmzotten lagen bereits fertig ausgebildet vor. Um dies zu vermeiden wurden mehrere ausgewachsene Larven aus den Körnern präpariert und ihr weiteres Verhalten beobachtet. Nach 24 Std etwa streckten sich die Larven, und die entstandenen Pronymphen zeigten bald im Vorder-



16c 50μ



16d 50μ



16b 50μ



100μ
16a

Abb. 16a—d. a *C. granaria*: Schnitt durch den neugebildeten Mitteldarm, die Einwanderung der Mycetocyten zeigend. b *C. granaria*: Einwanderung der sterilen Bakterienzellen in den imaginalen Mitteldarm. c *C. granaria*: Darmzotte einer jungen Imago mit sterilen Bakterienzellen. d *C. granaria*: Ovariolenendkammer eines soeben geschlüpften Weibchens

abschnitt kräftige Imaginalscheiben. Wenige Stunden später begannen die Tiere mit dem Abstreifen der Larvenhaut. Die Kopfkapsel springt dabei zwischen den Mandibeln auf, und mit kräftigen Bewegungen schüttelt das Tier die Haut ab. 48 Std nach Beginn der Längsstreckung lagen die fertigen Puppen vor, und nach weiteren 2 Std wurden sie fixiert. Alle Puppen zeigen die Einwanderung der sterilen Bakterienzellen in den Darm!

Mit Beginn der Metamorphose lockert sich das „Mycetom“ auf, und seine Zellen rücken näher an den Darm. Während der Bildung des Mitteldarms, die schon bald eingeleitet wird, wandern diese Zellen zwischen Darmepithel und Muscularis nach hinten und verteilen sich auch auf die Dorsalseite. Die „Bakteriocyten“ unterscheiden sich von den Zellen des Darmes durch ihre größeren Kerne und das kräftig angefarbte Plasma (Abb. 16b). Mit der Ausbildung der Zotten kommen die unbesiedelten Bakterienzellen ebenfalls in deren Endabschnitte zu liegen. Sie ordnen sich in Gruppen an der Grenze der Darmzellen und der sich stark vermehrenden Kryptenzellen an (Abb. 16c, vgl. Abb. 7a!). Es ist begreiflich, daß in den erwachsenen Käfern der Abbau dieser Zellen nur unter besonders günstigen Umständen zu beobachten ist. Er muß aber in gleicher Weise wie bei normal infizierten Tieren mit dem Ausschluß der „Bakteriocyten“ vonstatten gehen, da bei älteren symbiontenfreien Tieren in den Darmzotten keine Bakterienzellen mehr nachgewiesen werden können. Auch bei vollkommener Abwesenheit der Symbionten verläuft der Zyklus der Bakterienorgane nach dem überlieferten Rhythmus. Die Ausbildung der Ovariolen nimmt ebenfalls den gleichen Verlauf wie bisher. Unmittelbar nach dem Schlüpfen sind die Endkammern klein und zeigen noch zelligen Aufbau (Abb. 16d).

VII. Das Nutzproblem der *Calandra*-Symbiose

1. Untersuchungen an symbiontenhaltigen und symbiontenfreien Korn- und Reiskäfern

Die wie in anderen Bündnissen von Tier und Pflanze auch bei den *Calandra*-Arten sichtbaren sinnvollen Einrichtungen legen die Vermutung nahe, daß den Konsortien ein tieferer Sinn zukommt. Doch erst der einwandfrei nachgewiesene Nutzeffekt, den die vergesellschafteten Mikroorganismen vermutlich ihrem Partner bieten, erlaubt, die Gemeinschaft als Symbiose zu kennzeichnen. Daher müssen letzten Endes alle Untersuchungen in diese Frage einmünden. Nach den Temperatur- und Wirkstoffversuchen, welche die vollkommene Ausschaltung der Bakterien bei *C. granaria* und *C. oryzae* ermöglichten, scheint nun die Frage angebracht: Wie verhalten sich die künstlich symbiontenfrei gemachten Korn- und Reiskäfer im Vergleich zu ihren bakterienhaltigen Artgenossen?

Nach den bisherigen Erfahrungen an der ägyptischen Rasse von *C. granaria*, die offensichtlich den Verlust der Mikroorganismen übersteht, ist die Lebensnotwendigkeit ihrer Symbionten in Frage gestellt.

Wie schon mehrfach erwähnt, leben die Kornkäfer in den Vermehrungskulturen und während der Versuche ausschließlich auf entspelztem Hafer — für diese Art ein vorzügliches Nährmedium —, dagegen werden die später hinzugezogenen Reiskäfer fast ausschließlich auf Milokorn gehalten. Gerade die Wahl des ersten Mediums erweist sich für die Analyse der funktionellen Bedeutung der Mikroorganismen als besonders glücklich.

Die F_1 -Generation der wärmebehandelten Versuchstiere entwickelt sich in geschältem Hafer bei normalen Zuchtbedingungen ohne jegliche Verzögerung. Erstaunlicherweise fördert die Präparation mehrerer Haferkörner nach Ablauf einer entsprechenden Frist, nach der die F_2 -Generation in Gestalt ausgewachsener Larven vorliegen müßte, wohl Larven zutage, die jedoch klein und vertrocknet sind. Die anschließende umfassende Untersuchung ergibt von 100 präparierten Larven 93 tote und 7 lebende. Die Ursache der großen Mortalität ist unerklärlich, da die Bedingungen für die Entwicklung gleich denen der Normalkulturen sind, die sich durch prächtige Vermehrung auszeichnen.

Der folgende Versuch, bei dem sterile F_1 -Tiere und symbiontenhaltige Käfer als Kontrolle verwendet werden, bringt die Klärung: Von den symbiontenhaltigen Imagines werden im Laufe von 3 Tagen 60 Körner belegt. Diese enthalten zur Zeit der Präparation 18 Puppen, 8 Pronymphen und 34 ausgewachsene Larven. Die symbiontenfreien Weibchen legen in der gleichen Zeit nur 24 Eier ab. Die daraus entstehenden Larven können nach abgeschlossener Embryonalentwicklung die Eihülle verlassen, gehen jedoch ausnahmslos in den nächsten Tagen ein. In zahlreichen Parallelversuchen wiederholt sich diese Erscheinung. Die F_1 -Generation der wärmebehandelten Versuchstiere entwickelt sich in geschältem Hafer normal, während die von dieser Generation gezeugten Junglarven unmittelbar nach dem Verlassen des Eies eingehen. Das deutet unzweifelhaft darauf hin, daß die Ursache für das Absterben der Larven nicht auf äußeren Faktoren beruht. Vermutlich steht der Tod der Larven in engstem Zusammenhang mit dem Verlust der symbiontischen Mikroorganismen. Besteht diese Vermutung zu Recht, so ist bei den sterilen Käfern von *C. oryzae*, welche sich lediglich von Milokorn nähren, gleiches Verhalten zu erwarten. Nach dem Abschluß der erneuten Reifungsperiode zeigen sich bald in den Getreidesamen die Larven der ersten Filialgeneration. Ihre weitere Entwicklung verläuft in herkömmlicher Weise. Bei Weiterzucht der fertigen Käfer auf Milo stellen sich bei der F_2 -Generation sowie bei den folgenden keinerlei Ausfallserscheinungen ein. Für die Erklärung dieser Tatsache stehen zwei

Überlegungen zur Diskussion: Die Mikroorganismen sind für *C. granaria* lebensnotwendig, während *C. oryzae* ohne sie auszukommen vermag, oder aber die Bakterien sind für beide Arten in gleichem Maße wichtig, und lediglich auf Grund des ausreichenden Nährgehaltes der Milokörner kann sich *C. oryzae* am Leben erhalten. Der geschälte Hafer dagegen enthält mindestens einen oder gar mehrere der von den Bakterien produzierten Stoffe nicht oder in zu geringer Konzentration. Die Klärung erbringt das Experiment.

Symbiontenfreie F_1 -Tiere von *C. granaria*, die bisher auf geschältem Hafer lebten und deren Filialgeneration unmittelbar nach Verlassen der Eihülle eingeht, werden für 20 Tage zum Belegen auf Milo, anschließend auf Hafer zurückgegeben, und sterile, auf Milokorn lebende Reiskäfer legen im gleichen Zeitraum ihre Eier in entspelzten Hafer ab. Das Resultat der späteren Präparation entspricht ganz den Erwartungen. Die Junglarven von *C. granaria*, welche unter den gleichen Bedingungen in Hafer absterben, zeigen in Milo normale Vitalität. Sie entwickeln sich fernerhin uneingeschränkt, und nach abgeschlossener Verpuppung erscheinen bald die fertigen Käfer. Bei Weiterzucht auf Milo lassen auch sie trotz des Symbiontenverlustes keine Mangelercheinungen erkennen.

Bemerkenswert ist die Beobachtung an den erwachsenen Kornkäfern, die zur Eiablage für 20 Tage auf *Sorghum* lebten. Ihre Nachkommen gehen im geschälten Hafer nach Abschluß der Belegzeit nicht mehr unmittelbar nach dem Verlassen der Eihülle ein, sondern bleiben über einige Zeit am Leben. Zum Teil vollenden sie die 2. und 3. Häutung. In der Folge stellen sie jedoch ohne ersichtlichen Grund die Nahrungsaufnahme ein und sterben ab. Die in Hafer abgelegten Eier der sterilen Reiskäfer vermögen sich ebenfalls zu lebensfähigen Larven zu entwickeln, doch verzögert sich das Erscheinen der fertigen Käfer außerhalb der Körner im Vergleich zu den in Milo heranwachsenden Tieren um mehr als 1 Woche. Dagegen ist bei symbiontenhaltigen Reiskäfern die Entwicklungsgeschwindigkeit größer als bei den Kornkäfern. Bei Weiterzucht in geschältem Hafer stellen sich in der Folge die nämlichen Erscheinungen wie bei *C. granaria* ein. Die abgelegten Eier ergeben wohl lebende Larven, die aber nur wenige Tage am Leben bleiben und dann ausnahmslos absterben. Diese Ergebnisse berechtigen zu weitreichenden Schlußfolgerungen.

Zunächst zeigt sich, daß die vergesellschafteten Mikroorganismen für beide Arten eine außerordentlich große Bedeutung haben als Lieferanten einer oder mehrerer Substanzen, die das Larvenwachstum auffällig begünstigen. Der Verlust der intrazellularen Bakterien bringt sowohl die Korn- als auch die Reiskäfer in größte Abhängigkeit vom Nährsubstrat. Der glatte Verlauf der postembryonalen Entwicklung setzt ausreichende

Mengen der nämlichen Stoffe in der Nahrung voraus, die demnach für die *Calandra*-Symbionten nicht spezifisch sind, sondern im Pflanzenreich weitere Verbreitung besitzen. Der Verdacht, daß es sich hierbei um vitaminartige Substanzen handelt, ist naheliegend. Der Tod der symbiontenfreien Larven wäre demnach die Folge einer typischen Avitaminose. Offensichtlich ist dieses unbekannte Prinzip, welches ich aus Unkenntnis seiner Natur vorläufig *Faktor P* nennen will, in dem verwendeten Milokorn reichlich enthalten, so daß der Symbiontenverlust sich nicht bemerkbar macht, während dem geschälten Hafer der Faktor *P* fehlt oder nur in unzureichender Menge vorhanden ist. Der unmittelbare Tod der symbiontenfreien Larven nach Verlassen des Eies bei mangelhafter Nahrung kennzeichnet den Faktor *P* als eine für die larvale Entwicklung der Calandren ungemein wichtige Substanz. Die innige Vergesellschaftung der Calandren mit den Mikroorganismen, die den wirksamen Faktor *P* in reichem Maße zur Verfügung stellen, offenbart eine außerordentlich glückliche Verbindung. Das fehlende Vermögen zur Eigensynthese wurde durch die Aufnahme der Bakterien annulliert und gleichsam körpereigene Produktionsstätten für diese äußerst bedeutsame Substanz geschaffen.

Die Untersuchungen zeigen aber noch mehr bemerkenswerte Ergebnisse. Zur Vorbereitung des obigen Versuchs lebten sterile F_1 -Tiere von *C. granaria* für 20 Tage auf Milo. Die Larven aus den Eiern, welche nach einem Aufenthalt von 10 Tagen in geschältem Hafer abgelegt worden waren, starben nicht mehr unmittelbar nach dem Schlüpfen, sondern erst nach Vollendung einiger Entwicklungsstadien. Die Erscheinung ist nur durch die Annahme erklärlich, daß während des kurzfristigen Aufenthaltes der in Milo ausreichend enthaltene Faktor *P* aufgenommen und zum Teil gespeichert wurde. Die weiblichen Tiere dieses Versuchs konnten ihn im Vergleich zu den sterilen, ausschließlich auf Hafer lebenden Imagines den reifenden Eiern *reichlicher* mitgeben, so daß die Junglarven über längere Zeit am Leben blieben. Gleiches gilt auch für die auf Milo lebenden Reiskäfer, deren in Hafer abgelegte Eier mit einem mengenmäßig größeren Gehalt an wirksamer Substanz in der ersten Generation noch vollwertige Käfer ergaben, während die Mangelerscheinungen sich erst bei den von ihnen gezeugten Nachkommen bemerkbar machten. Um ein *Vielfaches* größer aber sind die Substanzmengen des Faktors *P*, welche die Bakterien ihren Wirten zur Verfügung stellen. Hier machen sich jene vortrefflichen Eigenschaften bemerkbar, welche die pflanzlichen Mikroorganismen als besonders nutzbringende Gäste erscheinen lassen. Es fehlen ihnen noch jegliche Regulationsmöglichkeiten, um die Synthese der lebenswichtigen Aufbaustoffe auf den eigenen Bedarf zu beschränken, weshalb der Überschuß der reichlich produzierten Wuchsstoffe von anderen, höher organisierten

Lebewesen zur Komplettierung des Vitaminbedarfs in Anspruch genommen werden kann. Nach Ausschaltung der Mikroorganismen in den erwachsenen Käfern sind die Vorräte in den Tieren trotz des eigenen Bedarfs, den der Aufenthalt auf dem geschälten Hafer mit sich bringt, noch so groß, daß die reifenden Eier solche Mengen des Faktors *P* erhalten können, welche die Entwicklung der gesamten F_1 -Generation bis zu fertigen Käfern gestatten. Erst in dieser Generation sind die Vorräte

Tabelle 3. Entwicklungsmöglichkeit und Entwicklungsdauer künstlich symbiontenfrei gemachter Kornkäfer in verschiedenen Getreidearten

Tage*	Milo	Weizen	Hafer	Gerste	Mais
33	—	—	—	—	—
34	2	—	—	—	—
35	1	1	—	—	—
36	—	—	—	—	—
37	3	—	—	—	—
38	4	1	—	—	—
39	1	—	—	—	—
40	3	2	—	—	—
41	3	—	—	—	—
42	—	1	—	—	—
	17	5	—	—	—

* Entwicklungsdauer der Tiere in Tagen, gerechnet vom Ende der Eiablage bis zum Erscheinen der Käfer außerhalb des Kornes.

Mikroorganismen für die Verbreitung versucht. Zur Untersuchung gelangen jeweils Milo, Weizen, Hafer, Gerste und Mais.

Je 30 sterile F_1 -Tiere von *C. granaria*, deren Parentalgeneration mit Hilfe erhöhter Temperatur symbiontenfrei gemacht worden war und die auf geschältem Hafer keine entwicklungsfähige Nachkommenchaft zeugen, werden für 3 Tage zum Belegen auf die verschiedenen Getreidearten gegeben und die belegten Körner unter optimalen Bedingungen mit konstant 28° C und 80—85% RH gehalten. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 dargestellt.

Wie nicht anders zu erwarten, entstehen aus den abgelegten Eiern im geschälten Hafer junge Larven, die nur wenige Tage am Leben bleiben und in der Folge ausnahmslos eingehen. Doch nicht allein auf diese Spezies bleiben die auffälligen Erscheinungen beschränkt. Auch geschälte Gerste und Mais stellen für die symbiontenfreien Junglarven äußerst ungünstige Nährmedien dar, die offenbar wie der entspelzte Hafer den Wachstumsfaktor *P* in unzureichender Menge oder gar nicht enthalten. Für die geschlüpften Larven bestehen keine weiteren Entwicklungsmöglichkeiten, und sie fallen in wenigen Tagen dem Tod anheim.

erschöpft, und der Wirkstoffgehalt der Eier, welche die zweite Filialgeneration ergeben sollten, reicht gerade für die Embryonalentwicklung aus. Unterbleibt die weitere Zufuhr des Faktors *P* mit der Nahrung, so sind die Larven zum Tode verurteilt.

Im weiteren Verlauf wird an Hand einiger Getreidespezies die Abhängigkeit der individuellen Entwicklung vom Wirkstoffgehalt der Nahrung bei symbiontenhaltigen und symbiontenfreien Kornkäfern geprüft und eine Analyse der Bedeutung der intrazellularen

Günstiger gestalten sich die Verhältnisse für jene Larven, die sich von Weizen nähren. Wohl sind von den sterilen Imagines nur wenige Eier abgelegt worden, doch vermögen sich die daraus schlüpfenden jungen Larven am Leben zu erhalten. Sie nehmen in der Folge rasch an Größe zu, und 35 Tage nach Abschluß der Belegzeit erscheint der erste Käfer außerhalb der Körner. Es besteht kein Zweifel, daß Weizen den Faktor *P* in ausreichendem Maße enthält. Die besten Entwicklungsmöglichkeiten bietet jedoch Milo. Bereits nach 34 Tagen erscheinen die ersten beiden Tiere, und in den darauffolgenden verlassen weitere Käfer in wechselnder Zahl die Körner. Offensichtlich ist mit dem Verlust der symbiontischen Mikroorganismen eine einschneidende Begrenzung des Lebensraumes verbunden, da nur noch wenige Getreidearten geeignete Entwicklungsmöglichkeiten bieten. Demgegenüber zeigen symbiontenhaltige Kornkäfer unter den nämlichen Bedingungen ein ganz anderes Verhalten (Tabelle 4).

Die bemerkenswerteste Tatsache ist wohl, daß aus allen Getreidearten lebende Käfer

hervorgehen. Ihre Zahl ist bei Mais nicht sehr bedeutend, und sicherlich bietet er von allen geprüften Spezies die ungünstigsten Entwicklungsmöglichkeiten. Günstiger liegen die Verhältnisse bei den Gerstetieren, deren Nachwuchsrate fast mit jener vom Weizen übereinstimmt. Die vordem völlig unzureichende Entwicklungsgrundlage des Hafers ist ebenso wie bei Mais und Gerste gewichen, ja mit 42 Tieren stellt diese Gruppe die zahlenmäßig stärkste Nachkommenchaft. Neben der durchgehenden Entwicklung in allen Getreidespezies und der im Vergleich zu den sterilen Tieren vermehrten Eiproduktion zeigt der Versuch noch weitere bemerkenswerte Tatsachen, für deren Ursache wir die Mikroorganismen verantwortlich machen müssen. In allen Versuchsgruppen erscheinen die ersten voll entwickelten Käfer bereits am 30. oder 31. Tag außerhalb der Körner, während die sterilen Tiere frühestens nach 34 Tagen ihre Entwicklung abgeschlossen haben. Dieser Unterschied von 4 Tagen deutet darauf hin, daß auch in Milo und Weizen der Faktor *P* nicht in der für die Entwicklung der Calandren

Tabelle 4. Entwicklungsdauer symbiontenhaltiger Kornkäfer in verschiedenen Getreidearten

Tage	Milo	Weizen	Hafer	Gerste	Mais
29	—	—	—	—	—
30	3	—	1	1	1
31	3	1	1	1	1
32	2	1	2	—	—
33	3	1	3	1	—
34	2	1	3	—	2
35	7	1	5	1	—
36	5	2	4	—	1
37	4	1	4	1	—
38	4	2	7	3	—
39	—	2	7	2	—
40	1	1	3	—	1
41	—	—	—	—	—
42	—	—	1	1	1
43	—	—	1	—	—
44	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—
	34	13	42	11	7

nötigen optimalen Menge enthalten ist, und erst die zusätzliche Produktion der Mikroorganismen erlaubt den Abschluß des postembryonalen Wachstums in der kürzest möglichen Frist. Mit diesen günstigen Voraussetzungen wird das Minimum der Entwicklungsdauer erreicht. Einen bedeutsamen Hinweis auf die Produktionsleistung der symbiontischen Bakterien geben die Versuchstiere von Hafer, Gerste und Mais, die ja in ihrer Nahrung den Faktor *P* nicht vorfinden und allein auf jene

Tabelle 5. Die Entwicklungsdauer von *C. granaria* var. *africana* in verschiedenen Getreidearten

Tage	Milo	Weizen	Hafer	Gerste	Mais
32	—	—	—	—	—
33	2	1	—	—	—
34	2	3	—	—	—
35	1	2	—	—	—
36	2	—	—	—	—
37	1	—	—	—	—
38	—	1	2	—	—
39	2	—	—	1	—
40	—	—	—	1	1
41	—	—	1	—	—
42	—	—	—	—	—
43	—	—	—	—	1
44	—	—	1	—	—
45	—	—	1	—	—
46	—	—	—	—	—
47	—	—	1	1	1
48	—	—	—	—	—
	10	7	6	3	3

eingebüßt hat, die aber entwicklungs- und lebensfähig ist. Die bisher auf geschältem Hafer lebenden Tiere werden in gleicher Weise für 3 Tage auf die verschiedenen Getreidearten gegeben, die belegten Körner, wie in den vorhergehenden Versuchen, unter optimalen Bedingungen bei 28° C und 80—85% RH gehalten. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 niedergelegt.

Wiederum stellt sich das Milokorn als das beste Nährmedium dar, das für die erwachsenen Tiere den meisten Anreiz zur Eiablage bietet und aus dem mit einer 4tägigen Verzögerung die ersten fertigen Käfer hervorgehen. Auch der Weizen ist eine ähnlich gute, dem Milokorn nur wenig nachstehende Nahrungsgrundlage. Ganz im Gegensatz zu den künstlich symbiontenfrei gemachten Tieren vermögen sich die Larven der ägyptischen Kornkäferrasse auch in den übrigen Getreidearten zu entwickeln. Doch auch hier ist eine äußerst starke Entwicklungsverzögerung festzustellen, da bei Hafer als Nahrungsgrundlage die Imagines nach 39, bei Gerste nach 40 und bei Mais gar erst nach 41 Tagen außer-

Substanzmengen angewiesen sind, welche die Mikroorganismen zur Verfügung stellen. Die Menge ist so groß, daß die Larven ohne zusätzliche Bestandteile im Nährsubstrat ihre Entwicklung in der kürzest möglichen Zeit vollenden können, mit anderen Worten, die Symbionten stellen ihren Wirtsorganismen optimale Mengen des Faktors *P* zur Verfügung.

Aus naheliegenden Gründen scheint die gleiche Versuchsserie mit der ägyptischen Rasse des Kornkäfers, *Calandra granaria* var. *africana*, angebracht, die ebenfalls den einstigen Symbiontenschatz

halb der Körner erscheinen. Die letzten der nur wenigen Käfer schlüpfen mit einer 14tägigen Differenz im Vergleich zu den ersten in Milo und Weizen aufgewachsenen Tieren. Die Imagines der letzten 3 Versuchsgruppen sind ausnehmend klein, häufig nur halb so groß wie die aus Weizen und Milo stammenden (Abb. 17).

Welch ungünstiges Medium Gerste als Futtergrundlage bietet, offenbart ein Parallelversuch, in dem je 20 Tiere von *C. granaria* var. *africana* über längere Zeit auf Weizen und Gerste lebten. Die Auszählung nach 75 Tagen zeigt folgendes Ergebnis: Auf Weizen haben sich die Käfer stark vermehrt, und ihre Zahl ist auf 127 angestiegen. Ferner sind in den Körnern selbst viele schlüpfreife Imagines, Puppen und ausgewach-



Abb. 17. Die Abhängigkeit der Körpergröße vom Wirkstoffgehalt der Nahrung bei symbiontenhaltigen und symbiontenfreien Calandren. Links: Symbiontenhaltiger Kornkäfer, der sich in geschältem Hafer entwickelt hat. Mitte und rechts: *C. granaria* var. *africana*: Die Tiere sind in entspelztem Hafer (Mitte) und Weizen (rechts) aufgewachsen

sene Larven vorhanden. Dagegen ist die Vermehrung bei Gerste äußerst gering. Insgesamt sind hier nur 33 Tiere sichtbar, darunter 7 tote Käfer. Die effektive Zuwachsrate beträgt demnach lediglich 6 Tiere.

Wohl weisen die Ergebnisse klar darauf hin, daß auch die ägyptische Varietät des Kornkäfers in stärkstem Maße vom Wirkstoffgehalt der Nahrung abhängig ist, doch besitzt sie gegenüber den künstlich symbiontenfrei gemachten Tieren eine geringe Überlegenheit. Diese Tatsache kann in verschiedenen Gegebenheiten ihre Begründung haben. Denkbar wäre, daß die Käfer im Laufe der Zeit gelernt haben, mit den minimalen Mengen des Faktor *P* auszukommen, die sicher auch in Hafer, Gerste und Mais enthalten sind. Ich nehme an, daß sich die symbiontenfreie Varietät in größerem Maße eine andere Mikroorganismenflora zugelegt hat. Vielleicht bewohnen diese Organismen das Innere des Darmes und synthetisieren ebenfalls den Faktor *P*, der den Larven jedoch nur in geringer Menge zufließt.

Die Kornkäfer, die heute zu den gefürchtetsten Getreideschädlingen zählen, sind nach ZACHER (1934) erst in historischer Zeit auf diese Nahrung übergegangen. Der Autor konnte in Gräberfunden aus dem ältesten Getreideland Ägypten wohl zahlreiche andere, heute bekannte Schädlinge, aber weder den Korn- noch den Reiskäfer nachweisen. Er

nimmt an, daß sowohl *C. granaria* als auch *C. oryzae* ursprünglich in Indien beheimatet waren und dort von Eicheln lebten, wie auch heute noch die beiden dort heimischen Arten *Calandra sculpturata* GYLL. und *Calandra glandium* MSHL. sich in den Früchten von *Quercus incana* sowie *Quercus dilatata* entwickeln. Sicher reichen die Anfänge der *Calandra*-Symbiose in diese Zeit zurück, und die Vereinigung der beiden Organismenarten geschah im Hinblick auf diese Nahrungsgrundlage. Somit scheint ein weiterer Versuch interessant, in dem die Wachstumsmöglichkeiten steriler und symbiontenhaltiger Larven von *C. granaria* in Eicheln geprüft werden.

Zahlreiche, bisher auf Hafer lebende Kornkäfer mit und ohne Symbionten werden auf Samen von *Quercus robur* gegeben, und schon bald zeigen sich in den Früchten junge lebende Larven. Während in der Folge nur die symbiontenhaltigen Formen an Größe zunehmen und 37 Tage nach Versuchsbeginn als fertige Imagines die Körner verlassen, sterben die symbiontenfreien Larven wenige Tage nach dem Schlüpfen aus dem Ei ab.

Der offensichtliche Nutzeffekt der intrazellularen Symbionten, den zu analysieren die Hauptaufgabe dieser Arbeit gebildet hat, berechtigt, die bestehende Gemeinschaft der Korn- und Reiskäfer mit den Bakterien als eine echte Symbiose zu kennzeichnen. Damit sind die Probleme der *Calandra*-Symbiose noch nicht erschöpft, und mit der Lösung der einen Frage taucht sofort eine neue auf: Welcher Art sind die Stoffe, die die Mikroorganismen produzieren, d. h. was verbirgt sich hinter dem Faktor *P*? Mit einigen Versuchen wird die Analyse dieser Frage eingeleitet.

2. Versuche mit dem Reismehlkäfer *Tribolium confusum*

Für die weitere Aufdeckung der Natur des Faktors *P* scheinen Versuche mit *Tribolium confusum* vorzüglich geeignet zu sein, da dessen Wirkstoffbedarf aus den Untersuchungen der Mitarbeiter des Paul Buchner-Instituts (G. FRÖBRICH, A. KOCH, K. OFFHAUS, I. SCHWARZ) genau bekannt ist. Da die Kornkäfer nur mit Hilfe ihrer Symbionten in bestimmten Medien leben können, bedarf zunächst die Frage einer Klärung, ob sich *Tribolium*, der ja keine Symbiose mit Bakterien eingegangen ist, auch nur in einigen wenigen Getreidearten entwickeln kann. Zahlreiche Reismehlkäfer werden daher zur Eiablage für einige Tage auf gemahlene entspelzten Hafer gegeben. Nach Ablauf der Eizeit erscheinen die kleinen Larven, die in diesem Substrat rasch an Größe gewinnen und schließlich lebensfähige Imagines ergeben. Wohl wäre denkbar, daß ähnlich wie bei *Calandra* ein Vitaminvorrat vorhanden ist und Ausfallerscheinungen sich erst nach einigen Generationen einstellen, doch ist die Weiterzucht der Tribolien auf geschältem Hafer

nach meinen bisherigen Beobachtungen unbegrenzt möglich. Das berechtigt zu folgenden Überlegungen: Der Faktor *P* ist mit keinem jener Vitamine identisch, die für die Entwicklung des Reismehlkäfers entscheidend sind, oder er zählt zu den 8 bekannten Wuchsstoffen, ist jedoch bei beiden Tierarten von unterschiedlicher Bedeutung. Während der Faktor *P* für die Tribolien nur eine untergeordnete Rolle spielt und sie mit einer im geschälten Hafer möglicherweise vorhandenen minimalen Konzentration auszukommen vermögen, reicht diese Menge für die Calandren nicht aus. Diese Annahme scheint nicht allzu abwegig, da *Tribolium* und *Calandra* im System der Coleopteren entfernten Gruppen angehören. Um zu entscheiden, welche der beiden Auffassungen zutrifft, unternehmen wir einen neuen Versuch. Dabei gehen wir von der Voraussetzung aus, der Faktor *P* sei eines der 8 für *Tribolium* lebenswichtigen Vitamine, das auch im geschälten Hafer in Spuren vorhanden ist. Nun wissen wir, daß mit höheren Wuchsstoffdosierungen — wobei das Maß der Erträglichkeit nicht überschritten werden darf — eine Entwicklungsbeschleunigung erfolgt. Zur Durchführung des Versuchs benötigen wir also eine zweite Substanz, die den Faktor *P* im Vergleich zum geschälten Hafer in größerer Konzentration enthält. Stoffe dieser Art sind uns bereits bekannt, nämlich Milo und Weizen. Erfolgt die Verpuppung der Reismehlkäferlarven in Milo früher als im geschälten Hafer, dürfen wir annehmen, daß der Faktor *P* mit einem der von *Tribolium* benötigten Vitamine identisch ist.

In beiden Substraten nehmen die Larven rasch an Größe zu und schreiten bald zur Verpuppung. Tatsächlich sind in Milo nach 18 Tagen bereits 4 Puppen und 8 Pronymphen vorhanden, während im geschälten Hafer nur 3 Pronymphen sichtbar sind. Puppen treten erst am nächsten Tag auf.

Nach den schwerwiegenden Folgen, die der Verlust der Symbionten mit sich bringt, ist der Unterschied von einem Tag zu gering als daß er zu einer eindeutigen Aussage berechtigen könnte. Er mag zum Teil darauf beruhen, daß der Vitamingehalt im gemahlenen Milo allgemein etwas größer ist als im Hafer, da das maschinell vorgenommene Entspelzen bei letzterem häufig den Verlust der vitaminreichen Keimlinge mit sich bringt. Vielmehr möchte ich annehmen, daß der Faktor *P* nicht mit einem der Wuchsstoffe identisch ist, die *Tribolium confusum* für den glatten Verlauf der Entwicklung benötigt. Die Klärung seiner Natur bleibt der weiteren Arbeit vorbehalten.

VIII. Diskussion der Ergebnisse

Ergeben sich mit dem Verlust der Mikroorganismen solche eindeutigen Ausfallserscheinungen wie bei *Calandra*, so dürfen wir mit Recht den Symbionten im Organismus des Insekts eine große Bedeutung zuerkennen.

Die Verbindung der Calandren gerade mit diesen Mikroorganismen, welche den für die Entwicklung der Käfer so wesentlichen Faktor *P* in überreichem Maße zur Verfügung stellen, trägt in großem Umfang zur Ausweitung des Lebensraumes von *C. granaria* und *C. oryzae* bei. Gleichzeitig gibt diese Vereinigung einen Hinweis auf die sorgsame Auslese, mit der die Insekten unter der Vielzahl der Bakterien und Hefen den geeignetsten Partner ausgewählt haben. Eine solche Auslese müssen wir trotz mancher Kritik (MARTINI 1932, W. SCHWARTZ 1935, M. MÜLLER 1934) annehmen. Sind die vergesellschafteten pflanzlichen Gäste für spezielle Aufgaben bestimmt und nach der Art ihrer Leistungsfähigkeit für die besonderen Bedürfnisse der Wirtsorganismen ausgewählt, scheint es nicht verwunderlich, wenn mit der vollkommenen Ausschaltung der Mikroorganismen von Objekt zu Objekt sich recht verschiedene Ausfallserscheinungen bemerkbar machen. Bei *C. granaria* und *C. oryzae* erleidet das individuelle Wachstum keinerlei Einbuße, sofern das Nährmedium ausreichende Mengen jener Substanz enthält, welche bisher die symbiontischen Mikroorganismen zur Verfügung gestellt haben. In ungünstigen Substraten jedoch macht sich der Bakterienverlust mit all seinen schwerwiegenden Folgen sofort bemerkbar. Ähnlich einschneidende Folgen bringt der Symbiontenverlust beim Brotkäfer, *Sitodrepa panicea*, und dem Tabakkäfer, *Lasioderma serricorne*, mit sich (KOCH 1933, 1934; BLEWETT u. FRAENKEL 1944). Ohne Symbionten können sie in ihrer herkömmlichen Nahrung nur mit ausreichenden Zusätzen von wuchsstofffreier Hefe oder Hefeextrakten gedeihen. Der ebenfalls sich von Körnerfrüchten nährende Getreideplattkäfer *Oryzaephilus surinamensis* zeigt nach Ausfall seiner Symbionten im Vergleich zu den bakterienhaltigen Artgenossen kein abweichendes Verhalten und läßt sich ohne Behinderung unbegrenzt weiterzüchten (KOCH 1936). Auch in künstlicher Diät mit Vitaminzusätzen sind die Verschiedenheiten nur geringfügig (PANT u. FRAENKEL 1954, PANT 1954). Aus diesem Grunde den *Oryzaephilus*-Symbionten jeglichen Nutzen abzusprechen, scheint mir nicht angebracht, da sicher wie in allen anderen Fällen die Eigensynthese der Mikroorganismen Überschüsse an Wuchsstoffen hervorbringt, die den Wirtsorganismen zugute kommen. Sie bilden zumindest eine wertvolle Ergänzung der Nahrung. In neuester Zeit gelang A. HUGER (1956) die weitgehende Ausschaltung der Symbionten von *Rhizopertha dominica*, einem Getreideschädling, der nach Symbiontenverlust noch kein abweichendes Verhalten erkennen läßt. Inwieweit häufig noch vorhandene, geringe Bakterienreste für die Lebensfähigkeit der Käfer und Larven verantwortlich gemacht werden können, bleibt dahingestellt.

Die bisherigen Erfahrungen an künstlich symbiontenfrei gemachten Tieren, die bei Hefe- oder Vitaminzusätzen zur Nahrung hinsichtlich des Wachstums kaum den symbiontenhaltigen nachstehen (KOCH 1933,

BLEWETT u. FRANKEL 1944, ASCHNER u. RIES 1933, PUCHTA 1955), deuten zusammen mit den Beobachtungen an symbiontenhaltigen Tieren, die in großem Maße vom Vitamingehalt der Nahrung unabhängig sind (DE MEILLON, THORP u. HARDY 1947), klar darauf hin, daß den Symbionten wohl in den weitaus meisten Fällen die Produktion von Vitaminen zukommt. Hierfür sprechen auch die geglückten Züchtungsversuche an den Symbionten von *Rhagium bifasciatum* und *Rh. inquisitor* (GRÄBNER 1954), *Pseudococcus citri* (FINK 1952) und *Mesocerus marginatus* (HUBER¹). Vermutlich dürfen wir den Faktor *P* der *Calandra*-Symbionten als eine ähnlich geartete Substanz betrachten. Die Entwicklungsfähigkeit der ägyptischen Rasse des Kornkäfers, die ja ohne Symbionten zu leben vermag, bei eingehenderem Studium aber doch auffällige Unterschiede gegenüber den symbiontenhaltigen Artgenossen bekundet, schien MANSOUR (1930) beweiskräftig genug, den *Calandra*-Symbionten jeglichen Nutzen abzuspochen. In der Folge äußert sich MANSOUR (1934) recht kritisch zu der Auffassung, die den vergesellschafteten Mikroorganismen eine besondere Funktion zuerkennen möchte. Er weist dabei vor allem auf *Oryzaephilus* und *C. granaria* var. *africana* hin. Bei *Sitodrepa* jedoch scheint ihm der Zeitpunkt für ein abschließendes Urteil noch nicht gekommen.

Der Verlust der Mikroorganismen und seine Folgen sowie das Verhalten der Bakterien während des normalen symbiontischen Zyklus deuten unzweifelhaft darauf hin, daß bei *C. granaria* und *C. oryzae* die Symbionten nicht während des gesamten individuellen Lebens benötigt werden. Große Bedeutung dürfte ihnen vor allem während der post-embryonalen Entwicklung zukommen, in der für den ungehinderten Wachstumsverlauf ein großer Bedarf an dem so wesentlichen Faktor *P* besteht. Die starke Vermehrung der Bakterien in dieser Zeit steht sicher in engster Beziehung zu den Anforderungen des Wirts. Ferner weist die rasche Elimination der Mitteldarmsymbionten nach Erreichen des adulten Stadiums darauf hin. Die wichtige Funktion, die den symbiontischen Mikroorganismen bei den Korn- und Reiskäfern in der Larvalentwicklung zukommt, harmoniert mit Beobachtungen an anderen Objekten. Häufig sind gerade solche Insektenarten Symbiontenträger, deren Jugendstadien sich von einseitiger Kost ernähren. Auch nach erfolgreichen Ausschaltversuchen tritt die zeitlich begrenzte Bedeutung der Symbionten klar zutage. Wiederum sei als Beispiel *Pediculus* angeführt. Nach der Exstirpation der Magenscheibe sind die Ausfallserscheinungen um so größer, je früher die Operation vorgenommen wurde (ASCHNER 1934, ASCHNER u. RIES 1933). Auch *Stictococcus sjoestedti*, dessen Symbiose BUCHNER (1954) in jüngster Zeit eine ausführliche

¹ HUBER, L.: Erscheint in Z. Morph. und Ökol. Tiere.

Darstellung gewidmet hat, zeigt im männlichen Geschlecht die nämliche Situation. Durch die Entwicklung im mütterlichen Organismus haben die Männchen Anteil an der Wuchsstoffproduktion der Mikroorganismen, welche den weiblichen Tieren innewohnen. Daher sind sie nicht auf einen eigenen Symbiontenbestand angewiesen.

Die Klärung der physiologischen Bedeutung, welche die symbiontischen Bakterien im Körper des Wirts haben, stellt den Experimentator vor größte Schwierigkeiten. So vielgestaltig die Symbiosen geartet sind und so verschieden der Grad ihrer Innigkeit ist, so verschieden müssen auch die Methoden sein, die zur Sprengung der Gemeinschaften führen sollen.

Relativ einfach liegen die Verhältnisse in den Fällen, in denen die Symbionten in Kapseln den Eiern äußerlich beigegeben werden, wie etwa bei *Coptosoma* (SCHNEIDER 1940, H. J. MÜLLER, mitgeteilt bei BUCHNER 1940). Bei anderen Objekten mit Eibeschmierung gelingt die restlose Elimination der Mikroorganismen mit Hilfe der oberflächlichen Sterilisation der Eischale (KOCH 1933, BRECHER u. WIGGLESWORTH 1944). Solche Methoden scheitern aber überall da, wo die Infektion der heranwachsenden Generation auf frühester Entwicklungsstufe stattfindet. Hier müssen andere, verfeinerte Methoden in Anwendung gebracht werden. Die Thermosensibilität der *Oryzaephilus*-Symbionten, welche KOCH (1933, 1936) durch Zufall bemerkte, gestattet bei diesem Objekt die schrittweise Verdrängung der Mikroorganismen bis zur völligen Sterilität. Auch bei anderen Tieren wurde die Technik der Wärmebehandlung mit gleich gutem Erfolg erprobt (GLASER 1946, FINK 1952). Zur nämlichen Zeit, als KOCH *Oryzaephilus* symbiontenfrei machen konnte, wurde die sterile Population von *C. granaria* in Ägypten bekannt (MAN-SOUR 1934, 1935). Sie veranlaßte KOCH, auch für diese Art von Bakterien eine Wärmeempfindlichkeit anzunehmen, wobei die höheren Temperaturen im nordafrikanischen Raum den Tod der Symbionten von *C. granaria* var. *africana* verursacht haben sollen (KOCH 1936), eine These, die durch die vorliegenden Versuche ihre Bestätigung vollauf gefunden hat. Die gleichzeitig mit der nämlichen Technik unternommenen Versuche an *C. oryzae* hatten ebenfalls positiven Erfolg. Zwischen beiden Mikroorganismotypen bestehen jedoch wesentliche Unterschiede in der Thermosensibilität. Die Symbionten von *C. oryzae* besitzen ein höheres Temperaturmaximum und größere Resistenz gegen gleichmäßig hohe Temperaturen. Dürfen wir deshalb die Symbionten von *C. granaria* und *C. oryzae* als zwei verschiedene Bakterienstämme betrachten, wie bereits KOCH vermutet hat, so besteht an der gemeinsamen Herkunft kein Zweifel. Die Mikroorganismen von *C. oryzae* sind als eine abgeleitete Form mit der größeren, überhaupt möglichen Thermoresistenz zu betrachten, während *C. granaria* sich den ursprünglichen Stamm bewahrt

hat. Die Thermosensibilität der *Calandra*-Symbionten allein kann unter natürlichen Bedingungen die Stabilität der Lebensgemeinschaften bei beiden Arten beeinträchtigen. Die bisher bekanntgewordene bakterienfreie Population von *C. granaria* in Ägypten sowie die von mir isolierten Exemplare bei *C. oryzae* sind auffällige Folgeerscheinungen solcher Einwirkungen. Auch die nur mäßig infizierten Kornkäferstämme aus der Umgebung von London und Plymouth (MANSOUR 1935) verdanken vermutlich die geringe Zahl der Symbionten und die damit konform gehende Schrumpfung der Larvalmycetome dem Einfluß erhöhter Temperatur, dem die Tiere zu irgendeinem Zeitpunkt ausgesetzt gewesen sind. Er hat jedoch nicht bis zum vollkommenen Verlust der Mikroorganismen geführt, und die Bakterienorgane mit ihren Symbionten befanden sich zur Zeit der Untersuchung auf dem Stadium der Regeneration zum Normalzustand.

Die erfolgreiche Anwendung der Hitzebehandlung zur Ausschaltung intrazellulärer Mikroorganismen scheint für alle jene Tiere eine elegante Methode, deren Temperaturmaximum höher liegt als das der Symbionten, und die Aufdeckung solcher bestehender Unterschiede sollte das Ziel von künftigen Untersuchungen sein. Welche Schwierigkeiten aber hierbei entstehen können, hat A. HUGER (1956) in exakten Experimenten an *Rhizopertha dominica* gezeigt. Dieser Getreideschädling, der in wärmeren Zonen beheimatet ist, lebt mit einem kokkenförmigen, zu Verbänden auswachsenden Bakterium in Symbiose. Die erhöhte Temperatur bewirkt die Schädigung und restlose Elimination der Symbionten aus den larvalen und imaginalen Mycetomen. Die nächstfolgenden Generationen enthalten in den Bakterienorganen wieder vereinzelt pleomorphe Mikroorganismen, welche sich im weiteren Verlauf der Wärmebehandlung als thermoresistent erweisen.

Der begrenzte Anwendungsbereich einer jeden Methode zwingt den Experimentator, stets neue, anders geartete Versuche zur Sprengung der Lebensgemeinschaften aufzufinden, und recht vielseitig sind die Möglichkeiten bereits, die heute der experimentellen Symbiontologie zur Verfügung stehen. Auch an *C. granaria* wurden bereits verschiedene Methoden erprobt, die aber bislang nicht zum Ziel geführt haben.

Versuche von H. KAUDEWITZ mit Orthophenylphenol (mitgeteilt bei KOCH 1950), mit dem angeblich die Ausschaltung der Darmsymbionten bei *Calandra* möglich ist, bedürfen einer Nachprüfung. Die zeitliche Folge der Bakterienverminderung, welche der Autor feststellte, stimmt genau mit der überein, die ich beim natürlichen Eliminationsvorgang in den jungen Imagines beobachtet habe. Ohne Zweifel hat das chemische Mittel die Symbionten nicht beeinflusst, da die Mikroorganismen in den Ovariolenendkammern unverändert geblieben sind.

Mit der Entdeckung der Antibiotika wurde eine ganz neuartige und vielversprechende Behandlungsweise der tierischen Lebensgemeinschaften

eingeleitet. Berichte von erfolgreichen Versuchen liegen bereits vor (BROOKS 1954). Vollkommene Sterilität ist jedoch nur bei solchen Objekten zu erwarten, welche mit Mikroorganismen geringerer Widerstandsfähigkeit ausgestattet sind. Andere Bakterien können durch sekundäre Zunahme ihrer Resistenz sogar recht starken Wirkstoffkonzentrationen widerstehen (A. HUGER 1956). Bei *C. granaria* und *C. oryzae* nimmt die Behandlung mit Aureomycin und Terramycin einen relativ glatten Verlauf und ermöglicht den Abbau der symbiontischen Mikroorganismen in ähnlich einfacher Weise wie bei Anwendung erhöhter Temperaturen. Nach den Ergebnissen meiner Experimente darf auch bei den Versuchen von MUSGRAVE u. MILLER (1951) eine Beeinflussung des Symbiontenbestandes durch Terramycin angenommen werden. Leider haben die Autoren die Wirkung dieses Antibiotikums auf die *Calandra*-Symbionten nicht geprüft. Die hohe Sterblichkeitsrate der Reiskäfer während der Versuche beweist noch nicht die Lebensnotwendigkeit der Symbionten. Nach meinen Erfahrungen reicht der Gehalt des Faktors *P* auch bei vollständiger Sterilität zur Entwicklung mindestens einer Generation aus. Ferner stellt der verwendete Weizen auch für sterile Tiere noch ein gutes Nährsubstrat dar.

Eine spätere Arbeit von MUSGRAVE u. MILLER (1953) befaßt sich mit morphologischen Fragen der *Calandra*-Symbiose. Neben anderen Beobachtungen, welche das bisher Bekannte bestätigen, machten die Autoren die bedeutsame Feststellung, daß ihr Kornkäfermaterial gar nicht von Natur aus symbiontenfrei gewesen ist, wie sie zuvor angenommen hatten.

Die Ansicht, daß *C. granaria* stets ohne Bakterien auftritt, fußt offensichtlich auf der Arbeit MANSOURS (1934), in der er erstmals nähere Angaben von der symbiontenfreien ägyptischen Varietät des Kornkäfers macht. Zum Teil mag diese Auffassung auch auf den Arbeiten von KRAUTWIG (1930) und INKMANN (1933) beruhen, die bei ihren entwicklungsgeschichtlichen Studien an *C. granaria* die Symbiose nicht berücksichtigt haben. Auch GRASSÉ (1949) vertritt diese irrtümliche Ansicht, wenn er schreibt: «Les mycétomes peuvent siéger sur les régions diverses de l'intestin moyen ou de l'intestin postérieur. Chez les espèces qui en sont pourvues, il peuvent ne pas être toujours occupés par des microorganismes symbiontes. C'est ainsi que des deux *Sitophilus oryzae* et *S. granarius* (*Curculionides*), le premier a un mycétome à bacteries, à l'état de larve et d'imago, le second a les mêmes organes, mais stériles.» (Traité de Zoologie; Tome IX, S. 866).

Zusammenfassung

1. Die Arbeit befaßt sich mit den beiden Getreideschädlingen, dem Kornkäfer (*Calandra granaria* L.) und dem Reiskäfer (*Calandra oryzae* L.).

2. Die vergleichende Betrachtung der beiden Tierarten ergibt neben bekannten charakteristischen Unterschieden weitere, artlich gebundene Merkmale, welche vor allem die Ausbildung der Hautflügel und die Histologie des larvalen Mitteldarmes betreffen.

3. Das Mycetom der Larven erweist sich bei beiden Tierarten als eine einheitliche, voluminöse Zellmasse, die aus 2 Schenkeln und einem Mittelstück besteht und in der Gesamtheit U-förmig erscheint. Es liegt ventral an der Übergangsstelle von Vorder- und Mitteldarm und ist dorsal durch einen, den Darm umgreifenden, zelligen Strang verankert.

4. Für *Calandra oryzae* L. konnte der Nachweis erbracht werden, daß in normalen Populationen Larven und adulte Tiere mit typischen, jedoch symbiontenfreien Bakterienorganen vorkommen.

5. Untersuchungen an *Calandra granaria* var. *africana* M. bestätigen die Angaben MANSOURS über die Sterilität dieser Varietät und liefern Einzelheiten des histologischen Baus der sterilen Organe.

6. Unmittelbar nach Erreichen des adulten Stadiums setzt in den Imagines ein Abbau der Mitteldarmsymbionten ein, der bei optimaler Temperatur 10 Tage nach Verlassen des Kornes in vollem Gang ist und nach 20 Tagen bereits die vollkommene Sterilität der Darmzotten bewirken kann. Bei niedrigeren Temperaturen verzögert sich die Elimination. Zur nämlichen Zeit bereiten sich die Bakterien in den Ovariolenendkammern durch eine äußerst starke Vermehrung auf ihre spezielle Aufgabe, die Infektion der heranreifenden Eier, vor.

7. Zur Analyse des Nutzeffektes der Mikroorganismen werden Ausschaltversuche unternommen. Zentrifugieren der Eier bleibt ohne Erfolg. Die Einwirkung von Hunger hat lediglich Gestaltveränderungen an den Bakterien zur Folge. Erhöhte Temperatur bewirkt den Abbau der Symbionten.

8. Eine Beeinflussung der larvalen Symbiontenbestände ist nicht möglich, da das Temperaturmaximum der Mikroorganismen höher liegt als das der Larven.

9. Die Symbionten der Imagines von *C. granaria* können bereits durch einen 5 Tage langen Aufenthalt bei 35° C geschädigt werden. Nach 10 Tagen sind die Bakterien aller Tiere betroffen, nach 15 Tagen treten symbiontenfreie Käfer auf, und die weitere Verlängerung der Wärmebehandlung bis auf 33 Tage bewirkt den vollkommenen Abbau der Symbionten.

10. Die Symbionten von *C. oryzae* sind thermoresistenter und ertragen ohne nachteiligen Einfluß einen 10tägigen Aufenthalt bei 35° C. Nach 15 und 20 Tage langer Wärmebehandlung kommen neben normalen Tieren sterile und teilweise geschädigte vor. Länger dauernde Einwirkung hat restlose Degeneration zur Folge.

11. Die Grenze der Thermosensibilität der Symbionten von *C. granaria* liegt bei 32° C, der von *C. oryzae* bei 34° C.

12. Bei Aufzucht von Larven der beiden Tierarten in Getreidekörnern, die mit einer Lösung von 50 mg Aureomycin oder Terramycin in 25 ml Aqua dest. getränkt sind, erfolgt die Reduktion des larvalen Symbiontenbestandes und bei fortgesetzter Einwirkung vollkommener Abbau. Die Bakterien in den Ovariolenendkammern der sich von den behandelten Körnern nährenden Tiere zeigen Beschränkung der Teilungsrates und fortschreitende Verminderung.

13. Nach Verlust der Symbionten werden während der Embryonalentwicklung die spezifischen Bakterienorgane stets reproduziert, und im weiteren Verlauf des Wachstums verhalten sich diese Organformen wie bei normaler Infektion.

14. Die Entwicklung der künstlich symbiontenfrei gemachten Tiere verläuft in der ersten Filialgeneration glatt. In der folgenden Generation sterben die Larven unmittelbar nach Verlassen der Eihülle ab, sofern das Nährmedium nicht die von den Symbionten produzierten Stoffe enthält. Solche Substanzen sind geschälter Hafer, geschälte Gerste und Mais. Sterile Larven entwickeln sich in Milokorn und Weizen. Die Larven der ägyptischen Varietät vermögen sich in allen Getreidearten zu entwickeln, in Hafer, Gerste und Mais jedoch mit einer starken Entwicklungsverzögerung.

15. Die von den Symbionten zur Verfügung gestellte, für das Larvenwachstum äußerst wertvolle Substanz wird als *Faktor P* bezeichnet. Erste Identifizierungsversuche verliefen ergebnislos, doch ist sie vermutlich nicht mit einem der von *Tribolium confusum* benötigten Vitamine identisch.

Literatur

Die mit * bezeichneten Arbeiten standen mir nur in Referaten zur Verfügung.

ANDERSEN, K. TH.: Der Einfluß der Temperatur und der Luftfeuchtigkeit auf die Dauer der Eizeit. I. Beitrag zu einer exakten Biologie des linierten Graurüßlers (*Sitona lineata* L.). Z. Morph. u. Ökol. Tiere **17**, 649—676 (1930). — Experimentelle Untersuchungen über die Luftfeuchtigkeit als Faktor der Embryonalentwicklung der Insekten. Arch. Zool. ital. **16**, 472—479 (1931). — Kann sich *Calandra granaria* L. in Mehl fortpflanzen? Z. angew. Entomol. **19**, 307—311 (1932). — Biologie des Kornkäfers (*Cal. gran.* L.). Nachr. Schädlingsbekämpfung **3**, 9 (1934). — Versuche zur Fortpflanzung des Kornkäfers. Mitt. der Ges. für Vorratsschutz E. V., H. 1. Berlin 1935. — Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Kornkäfer. Nachr. Schädlingsbekämpfung **4**, 1—16 (1935). ASCHNER, M.: Studies on the symbiosis of the body louse. I. Elimination of the symbionts by centrifugalisation of the eggs. Parasitology **26**, 309—314 (1934). — ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Eine experimentelle Symbiosestudie. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26**, 529—590 (1933). — BACK, E. A.: Stored grain pests. U. S. Dept. Agric. Farmers Bull. 1260, 1922, 1—47. — BACK, E., A., and R. T. COTTON: The granary weevil. U. S. Dept. Agric. Farmers Bull. 1393, 1920, 35. — Relative resistance of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L., and the granary weevil, *S. granarius* L., to high and low temperature. J. Agricult. Res. **28**, 1043, 1044 (1924). — BECHER, A.:

Biologische und hygienische Probleme bei der Anwendung der Antibiotika in der Tiernahrung. Landwirtsch. Forsch. **6**, 21—27 (1954). — BLEWETT, M., and G. FRAENKEL: Intracellular symbiosis and vitamin requirements of two insects, *Lasioderma serricorne* and *Sitodrepa panicea*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **132**, 212—221 (1944). — BODE, H.: Die Bakteriensymbiose bei Blattiden und das Verhalten der Blattiden bei aseptischer Aufzucht. Arch. Mikrobiol. **7**, 391—403 (1936). — BODENHEIMER, F. S.: Die Bedeutung des Klimas für die landwirtschaftliche Entomologie. Z. angew. Entomol. **12**, 91—122 (1926). — Über die ökologischen Grenzen der Verbreitung von *Calandra oryzae* L. und *Calandra granaria* L. (*Col. Curcul.*). Z. Insektenbiol. **22**, 65—73 (1927). — Die Schädlingsfauna Palästinas, S. 384. Berlin 1930. — BRAUN, H., ST. BERG, S. KESSLER u. P. MAVROIDI: Über die Anormomorphogenese bei Bakterien. Med. Mschr. **1954**, H. 7, 446—456. — BRECHER, G., and V. B. WIGGLESWORTH: The transmission of *Actinomyces rhodnii* ERIKSON in *Rhodnius prolixus* STAL. (Hemiptera) and its influence on the growth of the host. Parasitology **35** (1944). — BROOKS, M. A.: Certain aspects of the histochemistry and metabolic significance of the intracellular bodies (bacteroids) of cockroaches (*Blattariae*). Diss. Minnesota USA. 1954. — BUCHNER, P.: Symbiontische Einrichtungen bei blutsaugenden Tieren, Blattläusen und holzfressenden Insekten. Naturwiss. **15**, 752 (1927). — Holznahrung und Symbiose. Forschn u. Fortschr. **3** (1927). — Ergebnisse der Symbioseforschung. 1. Die Übertragungseinrichtungen. Erg. Biol. **4**, 1—129 (1928). — Tier und Pflanze in Symbiose, 2. Aufl. Berlin 1930. — Studien an intrazellulären Symbionten. VII. Die symbiontischen Einrichtungen der Rüsselkäfer. Z. Morph. Ökol. Tiere **26**, 709—777 (1933). — Symbiose und Anpassung. Nova Acta Leopold., N. F. **8** (1940). — Symbioseforschung und Stammesgeschichte. Umschau **1951**. — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel: Birkhäuser 1953. — Endosymbiosesstudien an Schildläusen. I. *Stictococcus sjoestedti*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 262—312 (1954). — Endosymbiosesstudien an Schildläusen. II. *Stictococcus diversiseti*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 387—396 (1955). — Endosymbiosesstudien an Schildläusen. III. *Macrocerococcus* und *Puto*, zwei primitive Pseudococcinen. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 523—577 (1955). — CLEVELAND, L. R.: Further observations and experiments on the Symbiosis between termites and their intestinal protozoa. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor Wood's Hole **54**, 231—237 (1928). — COLE, F. J.: The bionomics of grain weevils. J. Econ. Biol. **1**, 63—71 (1906). — COTTON, R. T.: Rice weevil. J. Agricult. Res. **20**, 409—422 (1920). — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intrazellulären Symbionten von *Pseudococcus citri* RISSE. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 78—146 (1952). — FRAENKEL, G.: The role of symbionts as source of vitamins and growth factors for their hosts. Tijdschr. Entomol. **95**, 183—196 (1952). — FRÖBRICH, G.: Untersuchungen über Vitaminbedarf und Wachstumsfaktoren bei Insekten. Z. vergl. Physiol. **27**, 335 bis 383 (1939). — FRÖBRICH, G., u. K. OFFHAUS: Neue Befunde zur Ernährungsphysiologie des Reismehlkäfers *Tribolium confusum* DUVAL. Verh. dtsch. zool. Ges. **1952**, 361—365. — Der qualitative Vitamintest mit dem Reismehlkäfer *Tribolium confusum* DUV. (*Tenebrionidae*, *Coleoptera*) als Testorganismus. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **5**, 358—369 (1953). — GEIGY, R., L. A. HALFF u. V. KOCHER: L'acide folique comme élément important dans la symbiose intestinale de *Triatoma infestans*. Acta trop. (Basel) **11**, 163—166 (1954). — GLASER, R. W.: The intracellular bacteria of the cockroach in relation to symbiosis. J. of Parasitol. **32**, 483—489 (1946). — GRÄBNER, K. E.: Vergleichend morphologische und physiologische Studien an Anobiiden- und Cerambycidensymbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 471—528 (1954). — GRASSÉ, P. P.: Traité de Zoologie. Insectes Tome IX. Paris 1949. — GROSS, J.: Untersuchungen über die Histologie des Insektenovariums. Zool. Jb., **18**, 71—186 (1903). — HERTER, K.: Der Temperatu-

sinn der Insekten. Berlin 1953. — HINDS and TURNER: Life history of the rice weevil (*Calandra oryzae* L.) in Alabama. J. Econ. Entomol. **6**, 230—236 (1911). — HUBER, L.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an der Wanze *Mesocerus marginatus* L. Erscheint in Z. Morph. u. Ökol. Tiere. — HUGER, A.: Experimentelle Eliminierung der Symbionten aus den Myzetomen des Getreidekapuziners, *Rhizopertha dominica* F. Naturwiss. **41**, 170—171 (1954). — Experimentelle Untersuchungen über die künstliche Symbiontenelimination bei Vorratschädlingen: *Rhizopertha dominica* F. (*Bostrychidae*) und *Oryzaephilus surinamensis* L. (*Cucujidae*). Im Druck. — INKMANN, F.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Kornkäfers (*Calandra granaria* L.). Die Anfangsstadien der Embryogenese. Zool. J., Abt. Anat. u. Ontog. **56**, 521—558 (1933). — KLEINE, R.: Der Kornkäfer im lagernden Getreide. Z. angew. Entomol. **15**, 159—164 (1929). — KOCH, A.: Die Symbiose von *Oryzaephilus surinamensis* L. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **23**, 389—424 (1931). — Über künstlich symbiontenfrei gemachte Insekten. Verh. dtsh. zool. Ges. **1933**, 143—150. — Über das Verhalten symbiontenfreier *Sitodrepa*-Larven. Biol. Zbl. **53**, 199—203 (1933). — Symbionten und Vitamine. Naturwiss. **21**, 543 (1933). — Symbiosestudien 2: Experimentelle Untersuchungen an *Oryzaephilus surinamensis* L. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **32**, 137—180 (1936). — Über den gegenwärtigen Stand der experimentellen Symbioseforschung. Verh. 7. Internat. Kongr. für Entomol., S. 736—741 (1938). — Fünfzig Jahre Erforschung der Insektensymbiosen. Naturwiss. **37**, 313—317 (1950). — Untersuchungen über Wachstumsaktivatoren. Zool. Anz. Suppl. **15**, 51—58 (1950). — Der Kornkäfer, ein Getreideschädling mit Bakteriensymbiose. Mikrokosmos **1950**. — Biologische und medizinische Probleme der Stoffwechselphysiologie symbiontischer Mikroorganismen. Münch. med. Wschr. **1951**, Nr. 13. — Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der experimentellen Symbioseforschung. Tijdschr. Entomol. **95**, 166—181 (1952). — KRAUTWIG, M.: Untersuchungen am Kornkäfer (*Calandra granaria* L.). Bau der Geschlechtsorgane und ihre gegenseitige Korrelation. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **52**, 539—596 (1930). — LILIENSTERN, M.: Beiträge zur Bakteriensymbiose der Ameisen. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26**, 110—134 (1932). — MANSOUR, K.: Development of the larval and adult mid-gut of *Calandra oryzae* L. Quart. J. Microsc. Sci. **71**, 313—352 (1927). — Preliminary studies on the bacterial cell-mass (accessory cell-mass) of *Calandra oryzae* L.: The rice weevil. Quart. J. microsc. Sci. **73**, 421—436 (1930). — On the so-called symbiotic relationship between coleopterous insects and intracellular microorganisms. Quart. J. Microsc. Sci. **77**, 255—271 (1934). — *MANSOUR, K., and J. J. MANSOUR-BEK: The digestion of wood by insects and the supposed role of microorganisms. Biol. Rev. **9**, 363—382 (1934). — MANSOUR, K.: On the microorganism-free and the infected *Calandra granaria* (L.). Bull. Soc. Roy. Entomol. Egypte **1935**, 290—306. — MARTINI, E.: Parasitismus in der Zoologie. Atti XI. Congr. Internat. Zool. Padova. Arch. Zool. ital. **16**, 1299—1314 (1932). — MEILLON, B. DE, J. M. THORP and F. HARDY: The relationship between ectoparasite and host, I. The development of *Cimex lectularius* and *Ornithodoros moubata* on riboflavin deficient rats. S. Afric. J. Med. Sci. **12** (1947). — MÜLLER, K.: Beiträge zur Kenntnis des Kornkäfers *Calandra granaria* L. Z. angew. Entomol. **13** (1928). — MÜLLER, W.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. III. Mitt. Über die Pilzsymbiose holzfressender Insektenlarven. Arch. Mikrobiol. **5**, 84—147 (1934). — MUSGRAVE, A. J., and J. J. MILLER: A note on some preliminary observations on the effect of the antibiotic terramycin on insect symbiotic-microorganisms. Canad. Entomologist **83**, 343—345 (1951). — Some micro-organisms associated with the weevils *Sitophilus granarius* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). Canad. Entomologist **85**, 388—390 (1953). — NOLTE, H. W.: Beiträge zur Kenntnis der symbiontischen Einrichtungen der Gattung *Apion* HRBST. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **33**, 165—200

(1937). — PANT, N. C.: Nutritional requirements of *Trogoderma granaria* EVERTS (Coleoptera, Dermestidae). *Current Sci.* **22**, 379—380 (1953). — PANT, N.C., and G. FRAENKEL: On the function of the intracellular symbionts of *Oryzaephilus surinamensis* (Cucujidae, Coleoptera). *J. Zool. Soc. India* **6**, 101—192 (1954). — PAVLAKOS, J.: Experimentelle Untersuchungen über Biologie und Ökologie des Kornkäfers *Calandra granaria* L. Diss. München 1931. — *PIERANTONI, U.: L'organo simbiotico nello sviluppo di *Calandra oryzae* L. *Rend. Accad. Sci. Fis. Mat. Napoli* **35** (1927). — La trasmissione ereditaria dei simbionti fisiologici nei coleotteri. *Arch. Zool. ital.* **13** (1928). — PUCHTA, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* BURM. *Naturwiss.* **41**, 71—72 (1954). — Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* BURM. *Z. Parasitenkunde* **17**, 1—40 (1955). — REITTER, E.: Fauna Germanica. Die Käfer des deutschen Reiches. Stuttgart 1911. — RICHARDS, O. W.: The two strains of the rice weevil, *Calandra oryzae* (L.) (Coleopt., Curculionidae). *Trans. Roy. Entomol. Soc. Lond.* **94** 187—200 (1944). — SCHEINERT, W.: Symbiose und Embryonalentwicklung bei Rüsselkäfern. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **27**, 76—128 (1933). — SCHNEIDER, H.: Künstlich symbiontenfrei gemachte Kornkäfer (*Calandra granaria* L.). *Naturwiss.* **41**, 147—148 (1954). — SCHWARTZ, W.: Der Stand unserer Kenntnisse von den physiologischen Grundlagen der Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. *Arch. Mikrobiol.* **6**, 369—460 (1935). — STAMMER, H. J.: Studien an Symbiosen zwischen Käfern und Mikroorganismen. I. Die Symbiose der *Dona-ciinen* (Coleopt. Chrysomel.). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **29**, 585—608 (1935). — II. Die Symbiose des *Bromius obscurus* L. und der *Cassida*-Arten (Coleopt. Chrysomel.). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **31**, 682—697 (1936). — Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. *Tijdsch. Entomol.* **95**, 23—44 (1952). — TARSIA IN CURIA, I.: Nuove osservazioni sull'organo simbiotico di *Calandra oryzae* LINN. *Arch. Zool. ital.* **18**, 247—264 (1933). — TEICHMANN, E., u. A. ANDRES: *Calandra granaria* L. und *Calandra oryzae* L. als Getreideschädlinge. *Z. angew. Entomol.* **6**, 1—22 (1920). — WEIDNER, H.: Bestimmungstabellen der Vorratsschädlinge und des Hausungeziefers Mitteleuropas. Jena 1937. — ZACHER, F., u. E. JANISCH: Untersuchungen über den Schädlingsbefall des Auslandsgetreides. *Arb. biol. Reichsanst.* **12**, 178—235 (1925). — ZACHER, F.: Die Vorrats-, Speicher- und Materialschädlinge und ihre Bekämpfung. Berlin 1927 S. 65—68. — Vorratsschädlinge im alten und neuen Ägypten. *Forschgn u. Fortschr.* **10**, 347—348 (1934). — Haltung und Züchtung von Vorratsschädlingen. *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden* 1933.

Dr. HANS SCHNEIDER, München 2, Luisenstr. 14,
Zoolog. Institut der Universität

Aus dem Zoologischen Institut der Universität München,
Abt. Paul Buchner-Institut für experimentelle Symbioseforschung
**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
KÜNSTLICHE SYMBIONTENELIMINATION BEI
VORRATSSCHÄDLINGEN: *RHIZOPERTHA DOMINICA* F.
(BOSTRYCHIDAE) UND *ORYZAEPHILUS SURINAMENSIS* L.
(CUCUJIDAE)*, ****

Von

ALOIS HUGER

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Oktober 1955)

Inhaltsübersicht

	Seite
A. <i>Rhizopertha dominica</i> F.	627
I. Einleitung und geschichtlicher Überblick.	627
II. Material und Methode	629
1. Haltung und Züchtung	629
2. Parasiten.	629
3. Histologie und bakteriologische Technik.	630
III. Biologie der Bostrychiden, insbesondere von <i>Rhizopertha dominica</i> F.	631
IV. Der symbiontische Zyklus von <i>Rhizopertha dominica</i> F.	632
V. Der Einfluß erhöhter Temperatur auf den Symbiontenbestand.	634
1. Larvalentwicklung bei hohen Temperaturen	634
2. Grad der Symbiontenschädigung bei hohen Temperaturen	636
3. Der Abbau der symbiontischen Organe	637
4. Vergleich der Größenentwicklung der Mycetome bei 30° C und 38° C	644
5. Die Reaktion der Mycetomkerne auf erhöhte Temperatur.	645
6. Die Degeneration der symbiontischen Mikroorganismen.	649
7. Das Verhalten der akzessorischen Zellen bei erhöhter Temperatur	652
8. Das Verhalten adulter Wärmetiere bei 30° C und 38° C	653
VI. Die Mycetombesiedlung bei Nachkommen von Wärmetieren	654
VII. Temperaturversuche mit weiblichen Imagines	660
VIII. Versuche bei niederen Temperaturen	664
IX. Versuche mit den antibiotischen Wirkstoffen Aureomycin und Terramycin	668
X. Die Degeneration der Mycetome männlicher Tiere	675
XI. Anomalien an den symbiontischen Einrichtungen.	679
B. <i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	681
I. Die symbiontischen Einrichtungen von <i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	681
II. KOCHS Temperaturversuche und ihre natürliche Auswirkung.	682
III. Kälteversuche.	683
IV. Versuche mit den antibiotischen Wirkstoffen Aureomycin und Terramycin	687
V. Das Geschehen in den männlichen Imaginalmycetomen	689
C. Diskussion der Ergebnisse	690
Zusammenfassung	697
Literatur	699

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.

** Zum Teil durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der auch an dieser Stelle gedankt sei.

A. *Rhizopertha dominica* F.

I. Einleitung und geschichtlicher Überblick

Der Stand der Kenntnisse über die große Fülle der erblichen Endosymbiosen wurde in den vergangenen Jahrzehnten insbesondere durch PIERANTONI, ŠULC, BUCHNER und dessen Schule so wesentlich vermehrt, daß wir uns heute eines in sich geschlossenen Bildes über die je nach der systematischen Zugehörigkeit der Tiere so vielfältigen Eigentümlichkeiten symbiontischer Konsortien erfreuen dürfen. Dieser deskriptive Zweig der Symbioseforschung, der sich um die Analyse der morphologischen Einrichtungen und die Klärung der Zyklen symbiontischer Bündnisse bemüht, wird unwillkürlich zum Wegbereiter für den heute sehr aktuellen Zweig der experimentellen Symbioseforschung. Ihm obliegt als letztes und höchstes Ziel die Klärung des Nutzeffekts. Der Weg, diesem näher zu kommen, stand von vornherein fest. Er ist zweifacher Art:

1. Lösung des symbiontischen Bündnisses zwischen Wirt und Einmieter, um eventuell auf diese Weise vom Wirt eine Antwort zu erzwingen.

2. Reinkultur der Symbionten in vitro und anschließender Feststellung ihrer physiologischen Potenzen.

Ersteres stellte auch das Kernproblem meiner Arbeit mit dem Getreidekapuziner, *Rhizopertha dominica* F., einem Vertreter der Bostrychiden, dar. Er und einige seiner Verwandten haben durch eine 1954 erschienene Veröffentlichung von P. BUCHNER erneut das Interesse auf die Symbiose dieser Käferfamilie gelenkt, auf deren Vorhandensein bereits im Jahre 1934 durch eine kurze Mitteilung MANSOURS hingewiesen wurde. Die in manchen Punkten sehr unwahrscheinlichen Ergebnisse jener Arbeit fanden mit BUCHNERS Untersuchungen ihre Berichtigung. Bedeutend war dabei die Erkenntnis, daß das symbiontische Erbgut von den weiblichen Tieren stammend auf dem Wege über die Ovarialinfektion weitergegeben wird, und nicht, wie MANSOUR fand, von den Männchen herrührt. Allein schon die nahe Verwandtschaft der Bostrychiden mit den Lyctiden ließ dies sehr zweifelhaft erscheinen, nachdem KOCH (1936) beim Splintkäfer, *Lyctus linearis* G., zu ganz anderen Ergebnissen gelangt war.

Durch den zufälligen Fund einiger Exemplare von *Rhizopertha* in einem mit verschiedenen Vorratsschädlingen stark verseuchten Getreidelager (Milo = *Sorghum spec.*: Importware unbekannter Herkunft) eines oberpfälzischen Lagerhauses richtete sich meine Aufmerksamkeit auf dieses Objekt, das mir vor allem wegen seiner leichten Züchtbarkeit für experimentelle Symbiosestudien sehr geeignet schien. Erfreulicherweise waren auch durch die bis dahin abgeschlossenen Untersuchungen BUCHNERS über die symbiontischen Einrichtungen dieses Käfers die Voraussetzungen dazu geschaffen.

Nicht selten bereiten der hohe Grad der gegenseitigen Anpassung zwischen den pflanzlichen Mikroorganismen und den tierischen Partnern und die noch unzureichende Erfahrung auf dem Gebiete der Methodik erhebliche Schwierigkeiten bei experimentellen Arbeiten. So gelingt es in vielen Fällen nicht, die Symbionten auszuschalten, in anderen wiederum kann bei symbiontenfreien Tieren schwerlich etwas über den Nutzeffekt der Lebensgemeinschaft ausgesagt werden. Für letzteres bildet der Getreideplattkäfer, *Oryzaephilus surinamensis* L., ein beredtes Beispiel.

1929 entdeckte PIERANTONI bei diesem Vertreter der Cucujiden vier symbiontische Organe, die er in einer kurzen Notiz umriß, um 1930 in einer weiteren Mitteilung das Wissen um die Embryologie dieses Käfers und die Genese seiner Mycetome zu erweitern. Aber erst eine kurz darauf unabhängig davon erfolgte gründliche Untersuchung von A. KOCH (1930; 1931), welche die gleichen Ziele verfolgte, vermochte vieles richtig zu stellen und letztes Licht in diesen komplizierten symbiontischen Zyklus mit all seinen Feinheiten zu bringen. Damit konnte der experimentelle Fragenkomplex in Angriff genommen werden.

A. KOCH (1936) gelang es, durch Temperaturerhöhung auf 36° C das symbiontische Bündnis von *Oryzaephilus* zu sprengen. Leider blieb uns aber der Käfer, wie schon erwähnt, die Antwort auf die durch die Elimination der Symbionten gestellte Frage nach dem Nutzeffekt bis heute schuldig, da er im symbiontenfreien Zustande keinerlei Ausfallserscheinungen zeigt. Auch mehrfache Bemühungen von FRAENKEL u. Mitarbeitern (1943, 1944, 1954), mit synthetischen Mangeldiäten Unterschiede im ernährungsphysiologischen Verhalten symbiontenfreier und symbiontenhaltiger Tiere herauszuarbeiten, führten zu keinen überzeugenden Ergebnissen. Das berechtigt jedoch noch lange nicht, dieser Symbiose jegliche Bedeutung abzusprechen; sind doch die bis heute auf diesem Gebiete erarbeiteten Untersuchungsmethoden in vielen Fällen noch zu grob, um Aufschluß über die feineren Wechselbeziehungen solcher symbiontischer Lebensgemeinschaften zu erhalten.

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit ist weiteren experimentellen Beiträgen zur Symbiose von *Oryzaephilus* gewidmet. Der Zufall ermöglichte es mir, auch den Einfluß erhöhter Temperatur auf die Besiedlung der Mycetome unter natürlichen Bedingungen zu studieren. Die Ergebnisse hierüber sind auch in diesem Abschnitt zu finden.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. A. KOCH, spreche ich für die Überlassung des Themas, für sein stetes Interesse am Fortgang der Untersuchungen und für seine allzeitige Hilfsbereitschaft auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

Für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die gewährten Unterstützungen schulde ich dem Vorstand des Zoologischen Instituts, Herrn Prof. Dr. K. von FRISCH, großen Dank.

II. Material und Methode

1. Haltung und Züchtung. Mein Material von *Rhizopertha* und *Oryzaephilus* entstammte zum Teil einem Lagerhaus (Oberpfalz), teils verdanke ich es der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. P. BUCHNER, der mir seine *Rhizopertha*-Kulturen überließ. Eine größere *Oryzaephilus*-Kultur verdanke ich dem Entgegenkommen der Landesstelle für Pflanzenbau und Pflanzenschutz in München.

Durch ihre leichte, jahreszeitlich unabhängige Züchtbarkeit boten beide Objekte gute Voraussetzungen für experimentelles Arbeiten. So konnte in Brutschränken bei 75—85% relativer Hydratur und einer konstanten Temperatur von 28° C für *Oryzaephilus* und von 30° C für *Rhizopertha* im Verlaufe von 4—5 Wochen je eine Generation erzielt werden. Unter diesen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen wurden eine ganze Reihe von Versuchen durchgeführt. Abweichungen von diesen Werten werden jeweils im Text gesondert angegeben.

Als Zuchtgefäße für sogenannte Stammkulturen wurden meist weithalsige Pulverflaschen von 100—200 cm³ benutzt, die mit einem Zellstoffbausch verschlossen wurden. Zu Sammelversuchen gelangten Tuben von 7,5 × 2,5 cm, die mit einem fein durchlöcherten Aluminiumdeckel verschlossen waren, zur Verwendung. Bei Versuchen mit Einzelpärchen bewährten sich kleinere, mit einem Wattepfropf verschlossene Tuben von 5 × 1,2 cm. Gute Züchtungsergebnisse wurden bei *Rhizopertha* mit Milokorn (*Sorghum spec.*) und Mais, bei *Oryzaephilus* mit Haferflocken und stark ausgemahlenem Weizenmehl erzielt.

Da für die Untersuchungen laufend genau datiertes Eimaterial, mitunter sogar in größeren Mengen, benötigt wurde, galt es, eine möglichst einfache Methode für die Eigewinnung auszuarbeiten. Müheles gelang dies bei *Oryzaephilus*: 60 bis 80 Käfer aus der Stammkultur wurden in eine halb mit Weizenmehl beschickte Tube von 7,5 × 2,5 cm gegeben und nach 24 Std mit einem kleinen Teesieb wieder abgetrennt. Die im Mehl befindlichen Eier wurden anschließend mit einem Sieb aus Müllergaze isoliert.

Schwieriger und umständlicher gestaltete sich die Eigewinnung bei *Rhizopertha*, da dieser Käfer seine Eier innerhalb kurzer Zeiträume nur ungern in Mehl ablegt. Falls dies geschieht, werden sie meist, mit Vaginalsekret zu Klumpen verklebt, an der Wand des Gefäßes befestigt, was beim Abnehmen zu einer kaum vermeidlichen Beschädigung führt. Doch die Beobachtung, daß die Tiere ihre Eier mit Vorliebe in kleine Spalten und Ritzen ablegen, half diese Aufgabe lösen. Mit einem Messer ließen sich nämlich in Milokörnern leicht künstliche Spalten erzeugen. Die beiden unvollständig getrennten Spalthälften werden durch die Samenschale gut zusammengehalten. In die so präparierten Körner wurden etwa 80—100 Imagines gesetzt und nach 24 Std wieder entfernt. Diese Zeit genügte für die Eiablage, die in Serien bis zu 10—12 Stück je Korn erfolgte. Unter dem Binokular sind die belegten Körner leicht zu erkennen. Durch entsprechendes Variieren von Körnerzahl und Tiermaterial gelangt man auf diese Weise zu jeder gewünschten Menge von genau datierten Eiern.

2. Parasiten. Die obengenannten Zuchtbedingungen waren auch günstig für die Vermehrung der Kugelbauchmilbe, *Pediculoides spec.*, eines Parasiten, der mit Vorliebe an Larven und Puppen von Insekten schmarotzt und dadurch Kulturen stark gefährdet. Wiederholt geschah es, daß die Milbe in die Brutschränke einwanderte oder verschleppt wurde und binnen kurzer Zeit alle Kulturen überschwemmte. Ganze Versuchsserien mußten deswegen vernichtet und von neuem angesetzt werden. Gründlichste Säuberung eines einmal verseuchten Thermostaten ist vor Wiederverwendung unerlässlich. Der gerne in Ritzen und Fugen desselben sitzenden Milben wird man am sichersten habhaft, indem man sie bei Normaltemperatur mit Äther betäubt und dann die Temperatur für einige Zeit auf 70 bis

80° C erhöht. Wichtig ist die Betäubung der Tiere, da diese sonst bei Temperaturerhöhung auswandern und später wieder im Brutschrank erscheinen. Ihre gute Beweglichkeit und ihre geringe Körpergröße ermöglichen ihnen dies mit Leichtigkeit.

Es war allerdings auch unvermeidlich, Tiermaterial zur Weiterzucht und auch oft wertvolle Versuchstiere wieder von Milben zu befreien. Dies ist gar nicht so leicht, da sich diese unter den Elytren oder in den Intersegmentalfurchen der Käfer oftmals verbergen. Einfaches Abpinseln der Tiere konnte also nicht genügen. Mehrere Wege wurden mit unterschiedlichem Erfolg beschritten, dabei aber die sogenannte Quarantänemethode als die sicherste erkannt und im folgenden immer wieder angewandt: Die aus verseuchten Kulturen entnommenen Käfer werden mit 96% Alkohol abgepinselt und mit wenig Futter in eine Tube gegeben, die wiederum in der Mitte einer mit 5% iger Lysollösung etwa 1 cm hoch gefüllten Glasschale steht. Diese Anordnung kommt unter den zur Züchtung der Tiere genannten Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen in einen reinen Thermostaten. Ein Auswandern eventuell noch vorhandener Milben ist damit unterbunden. Nach 2 Wochen läßt sich bei diesen Quarantänekulturen mit Sicherheit die Entscheidung treffen, ob sie milbenfrei oder -verseucht sind; denn wäre auch nur ein Weibchen der Milben verschleppt worden, so hätte sich dieses inzwischen derart vermehrt, daß ein Übersehen der Parasiten unter dem Binokular ausgeschlossen wäre. (Die Zeit von der Geburt eines Weibchens bis zum Hervorbringen der nächsten Brut beträgt bei 26—32° C 7 Tage.) Werden abermals Milben festgestellt, so ist die Prozedur in der gleichen Weise zu wiederholen.

Ein weiterer Parasit, der einmal in den Kulturen von *Rhizopertha* auftrat, war eine Schlupfwespe, *Lariophagus distinguendus* FÖRST., deren spindelförmige weiße Larven außen an den Käferlarven sitzen und sie aussaugen. Da ihre Vermehrungsquote nicht allzu hoch liegt, vermag sie größere Kulturen des Getreidekapuziners wohl zu dezimieren, aber nach meinen Beobachtungen nicht zum Aussterben zu bringen. Durch sorgfältiges Auslesen der Käfer und Einsetzen in neues Substrat gelingt im allgemeinen die Elimination dieses Parasiten.

3. Histologie und bakteriologische Technik. Da die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vor allem nach dem histologischen Bild der Mycetome beurteilt werden mußten, war es wichtig, eine Fixierungsflüssigkeit zu wählen, welche die relativ geringsten Veränderungen und Artefakte in deren Feinstruktur hervorruft. Auf Grund der guten Ergebnisse wurde schließlich zum Fixieren von Larven, Puppen und Imagines neben Susa und Carnoy besonders dem Pikrinsäure-Formol-Eisessig-Gemisch nach BOUIN der Vorzug gegeben. Vorsichtiges Anstechen der Objekte am Vorder- und Hinterende war dabei unerlässlich. Nach gründlichem Auswaschen in 70% Alkohol und Passage der üblichen Alkoholreihe wurde über Methylbenzoat und Benzol im Paraffingemisch nach McCLEUNG eingebettet. Nur gründlichst entwässerte Objekte boten Gewähr für eine optimale Konservierung der empfindlichen Mycetomstruktur. An Stelle von Isopropylalkohol ist dabei absoluter Äthylalkohol zu empfehlen.

Die Schnittdicke betrug 3—6 μ . Für Übersichtsbilder erwies sich Färbung mit saurem Hämalaun nach P. MAYER und Gegenfärbung mit 0,1% iger wäßriger Eosin- bzw. Erythrosinlösung als sehr geeignet. Die Mehrzahl der Präparate wurde jedoch mit HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin tingiert. Besonders zur Darstellung des komplizierten Baus der Bakterienverbände von *Rhizopertha* war dies unentbehrlich¹. Ausgezeichnete Ergebnisse lieferte auch Eisenhämatoxylin nach WEIGERT. Gelegentlich wurde Eisentrioxyhämatein nach HANSEN mit gutem Erfolg verwendet.

¹ Bei entsprechender Differenzierung in Eisenalaun lassen sich mit HEIDENHAIN-Färbung sogar zentrale Einschlüsse in den Bakterien darstellen. Vermutlich handelt es sich dabei um Kernäquivalente.

Die Präparation der Mycetome, die einige Geschicklichkeit und Übung erfordert, erfolgte mit Hilfe von selbstgeschmiedeten und -geschliffenen Skalpellen und Nadeln. Als Ausgangsmaterial hierfür eignen sich Nähnadeln aus gutem Stahl vorzüglich. Präpariert wurde meist in Ringerlösung für Kaltblüter. Erstaunlicherweise eignete sich auf Zimmertemperatur gebrachtes Leitungswasser sehr gut als Präparations- und Ausstrichmedium für die Symbionten des Getreidekapuziners, während der Gebrauch von physiologischer Kochsalzlösung weitgehende Deformation derselben zur Folge hatte. Die Mycetomausstriche wurden mit Methylenblau, Gentianaviolett, Karbolfuchsin oder mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt.

III. Biologie der Bostrychiden, insbesondere von *Rhizopertha dominica* F.

Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen an *Rhizopertha* lassen eine kurze Schilderung der Biologie der Bostrychiden angebracht erscheinen:

Die etwa 350 bis heute bekannt gewordenen Bostrychidenarten sind vornehmlich in den Tropen und Subtropen beheimatet. Aber auch in unseren Breiten finden sich Vertreter dieser Käferfamilie. Bei den im allgemeinen wenig wählerischen Käfern ernährt sich oft dieselbe Spezies von den verschiedensten Wirtspflanzen. Mit wenigen Ausnahmen vollzieht sich die Entwicklung in holzigen Partien oder in reservestoffreichen Geweben von Angiospermen. Stärke, Zucker und Proteine stellen dabei die wichtigsten Nahrungsbestandteile dar, während Zellulosen und Hemizellulosen nicht abgebaut und verwertet werden können (PARKIN 1940).

So wie bei anderen an Holz und Sträuchern lebenden Käferfamilien einzelne Vertreter zu Vorratsschädlingen geworden sind — *Calandra* unter den Curculioniden, *Sitodrepa* unter den Anobiiden, *Oryzaephilus* unter den Cucujiden —, gibt es auch unter den Bostrychiden Gattungen, die vorzugsweise in Früchten, Knollen, Cerealien und anderen Vorräten leben. Der Getreidekapuziner, *Rhizopertha dominica* F., ist dafür bekannt. Seine Polyphagie macht ihn zu einem gefürchteten Schädling, jedoch ist seine Vorliebe für Cerealien und die daraus hergestellten Produkte unverkennbar.

Als Temperaturoptimum für seine Fortpflanzung wird meist 32 bis 34° C angegeben; nach GAY (zit. nach ZACHER 1951) liegt es erst bei 35° C. Eine Reihe eigener Versuche, die bei 35—36° C durchgeführt wurden, bestätigen diese Auffassung durchaus, ergab doch gerade dieser Temperaturbereich im Vergleich zu allen anderen die größte Vermehrungsquote bei kürzester Entwicklungszeit. So verstehen wir, warum gerade tropische und subtropische Gebiete sein Hauptverbreitungsgebiet darstellen. Sein Auftreten in der gemäßigten Zone ist daher an günstige Temperaturbedingungen gebunden. So fand ich ihn einmal in einem Getreidesilo, in dem sich durch das massenhafte Vorhandensein von *Calandra oryzae* und anderen Vorratsschädlingen Wärmenester gebildet hatten.

Den großen Schaden, den der Getreidekapuziner dort anrichtet, wo er auftritt, erklärt seine ungezügelte Gefräßigkeit, welche die des Kornkäfers (*Calandra*) um das 6—7fache übertrifft. Der Umstand, daß er dabei laufend Schrot erzeugt, der sich zwischen den Körnern anreichert, erhöht seine Schädlichkeit ganz bedeutend. Dazu kommt die außerordentliche Fruchtbarkeit der Weibchen (ein Weibchen legt durchschnittlich 418 Eier), die eine schnelle Vermehrung garantiert.

Aus den ovalen bis birnenförmigen, weißen Eiern gehen nach ca. 6 Tagen etwa $\frac{1}{3}$ mm lange, gegen Austrocknung sehr empfindliche, gut bewegliche Eilarven hervor. Wie Beobachtungen zeigen, fällt es ihnen zunächst schwer, in unverletzte Körner einzudringen, weshalb sie eifrig versuchen, über Schadstellen, Spalten und Risse das schützende Innere zu erreichen. Viele Larven gehen dabei zugrunde. Immer wieder stieß ich auf Ansammlungen von mehreren Larven in einem Spalt eines Kornes. Da aber die Tiere das Bestreben haben, kleinere Körner für sich alleine zu behaupten, versucht nach etwa 5 Tagen die stärkste Larve alle anderen Insassen zu vertreiben. Den immer wieder in Kornspalten angetroffenen toten Larven nach zu schließen spielen sich hierbei Kämpfe ab, in deren Verlauf die schwächeren, falls sie nicht die Flucht ergreifen, tödlich unterliegen. Versuche, bei denen der geschilderte Fall imitiert wurde, bestätigten diese Vermutung. In größeren Körnern, wie z. B. Mais, ist es durchaus möglich, daß mehrere Larven an verschiedenen Stellen minieren. Im ausgefressenen Getreidekorn erfolgt dann die Verpuppung. Bei einer Puppenruhe von 5—6 Tagen erfordert die Entwicklung einer Generation im warmen Tropenklima kaum 1 Monat.

IV. Der symbiontische Zyklus von *Rhizopertha dominica* F.

Über die symbiontischen Einrichtungen von *Rhizopertha dominica* sind wir durch BUCHNERS Arbeit gut unterrichtet. Die wichtigsten Angaben darüber seien daher in Kürze nur soweit wiedergegeben, als sie für das Verständnis der folgenden Untersuchungen erforderlich sind:

Sitz der Symbionten sind zwei runde bis ovale Mycetome, die bereits embryonal angelegt werden und von einem stark abgeplatteten Hüll-epithel umschlossen sind. Jedes derselben besteht aus mehreren großen Syncytien, deren physiologische Einheit sich auch später bei den Versuchen bestätigte. Die nach BUCHNERS Befunden nur einkernigen Mycetocyten der ersten Larvenstadien traf ich wiederholt schon mehrkernig an.

Die Lage der Mycetome ändert sich während der Metamorphose ähnlich wie bei *Oryzaephilus surinamensis* L. und *Lyctus linearis* G. (Koch 1931, 1936). Bei jungen Larven finden sie sich im hinteren Körperdrittel dorsal und ventral zu beiden Seiten des Darmtrakts in unmittelbarer Nähe der Gonaden, eingebettet in die lateralen Fettkörperlappen. Durch eine kopfwärtsgerichtete Verlagerung kommen sie,

den beiden Seiten des Mitteldarms eng angeschmiegt, in die Region des ersten und zweiten Abdominalsegments zu liegen. Die sie versorgenden Tracheenstämme entsenden auch Ausläufer zum Darm und den Gonaden. Bei Weibchen, deren Abdomen prall mit Eiern gefüllt ist, bereitet das Auffinden dieser Bakterienorgane bei der Präparation nicht selten große Schwierigkeit.

Jedem der Mycetome ist ein merkwürdiger Verband von Zellen zugeordnet. Diese „akzessorische“ Zellmasse MANSOURs und BUCHNERs steht in genetischem Zusammenhang mit den embryonalen Mycetocyten.

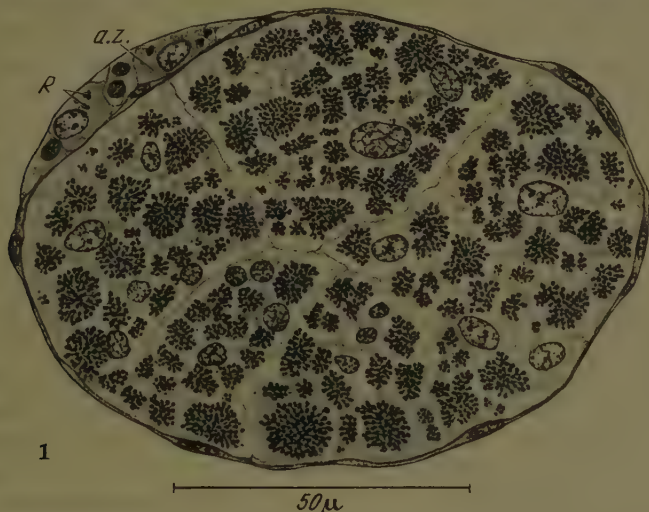


Abb. 1. Mycetom einer Larve mittleren Alters; *R* Restsymbionten in der akzessorischen Zellmasse (*a. z.*)

In jüngeren Larven sitzt sie in meist kegelförmigen Anschwellungen dem Mycetomepithel auf (s. BUCHNER 1954, Abb. 34). Im weiteren differenziert sie sich deutlicher heraus und liegt bei älteren Larven meist in Gestalt einer Kalotte den rundlichen Mycetomen auf (Abb. 1). Bisweilen lockert sie sich auch zu mehreren Zellinseln auf. Zwischen sie sind kleinere Zellen eingekleilt, die zeitlebens ein selbständiges Dasein führen. In der Puppe bildet die akzessorische Zellmasse ein oder zwei dicht gepackte Haufen von mehrkernigen Syncytien, die unterschiedlich deutlich vom Mycetomepithel mitumspannt werden. Von diesem losgelöst stellt sie in weiblichen Imagines wieder einen lockeren Zellhaufen dar.

Während und nach der Besiedlung der regulären Mycetocyten auf embryonalem Stadium werden von den akzessorischen Zellen oftmals restliche Symbionten aufgenommen, denen eine Einwanderung in die bereitgestellten Mycetome aus unbekannten Gründen nicht möglich war (Abb. 1). In der Regel verhalten sich diese völlig passiv und gleichen

bis zu ihrem Verschwinden auf einem älteren Larvenstadium im wesentlichen den Infektionsformen. Nur etliche Male hatte ich Gelegenheit, auch bei diesen verirrtten Bakterien Ansätze zur Vermehrung zu beobachten. Niemals resultierten daraus aber die für die Mycetome typischen Verbände, sondern es war nur ein geringes Auseinanderweichen oder ein Zerfall der kokkoiden Bestandteile. Insgesamt erweckte das Bild den Eindruck einer Vermehrungshemmung.

Die erbliche Übertragung der Symbionten vollzieht sich auf dem Wege über die Ovarialinfektion. Breite Straßen zwischen den Follikelzellen ermöglichen ihnen den Eintritt ins Ei. Im fortgeschrittenen Stadium der Embryonalentwicklung besiedeln sie die bis dahin bereitgestellten paarigen Mycetomanlagen. Bereits jetzt setzt eine deutliche Vermehrung ein. Der für die Symbionten von *Rh. dominica* so typische Rosettencharakter kommt dabei immer mehr zum Vorschein. Ganz deutlich wird dies bei Larven mittleren Alters, wo im Zuge der rasch aufeinanderfolgenden Teilungen Riesenverbände und ganze Nester von „Rosetten“ relativ locker das im Wachstum vorseilende Mycetom erfüllen (Abb. 1). Es handelt sich dabei um kugelige bis tropfenförmige Einzelelemente, die mit feinen Plasmastielen zu diesen „Rosetten“, bzw. kugeligen oder traubigen Verbänden, zusammengeschlossen sind. In älteren Larven besteht die Hauptmasse der Symbionten aus dicht gelagerten kleineren Verbänden. Die Puppenmycetome sind schließlich erfüllt von kleineren Symbiontengröppchen, die schon mehr den Vorstadien ähneln, welche im adulten Weibchen zur Bildung der Übertragungsformen führen. Letztere bestehen aus wenigen, dicht vereinten, kokkenförmigen Einzelgliedern. Bei stärkerer Färbung erscheinen diese Bakterienkonglomerate homogen.

Die Mycetome der männlichen Imagines unterliegen im Laufe ihres Lebens allmählich einer totalen Degeneration. Darüber soll weiter unten an Hand eigener Untersuchungen noch eingehend berichtet werden.

V. Der Einfluß erhöhter Temperatur auf den Symbiontenbestand

1. Larvalentwicklung bei hohen Temperaturen. In dem Bestreben, das symbiontische Bündnis von *Rh. dominica* zu lösen, um eventuell auf diese Weise Aufschluß über die kausalen Zusammenhänge dieser gesetzmäßigen Lebensgemeinschaft zu bekommen, bildeten die bisherigen Erfahrungen auf dem Gebiete der experimentellen Symbioseforschung die Grundlage für die Wahl der Methodik. Demnach kamen für dieses Objekt in erster Linie Zentrifugierungsversuche, wie sie ASCHNER (1934) mit Erfolg an Kleiderläusen anwandte, und Temperaturversuche in Frage.

Zur Zentrifugierung der Eier diente eine Zentrifuge mit 3000 Umdrehungen je Minute und 15 cm wirksamem Radius (s. PUCHTA 1955).

Bei allen Versuchen wurden die Eier in kleinen, horizontal und vertikal angelegten Dellen eines Pappkartons befestigt, der am Ende des Läufers, senkrecht zu dessen Armen stehend, montiert wurde. Ihre birnenförmige Gestalt ermöglichte es, sie dabei teils nach der einen teils nach der anderen Richtung zu orientieren. Mit zunehmender Dauer der Zentrifugierung nahm die Zahl der noch zur Entwicklung gelangenden Eilarven ab. Alle embryonalen Entwicklungsstadien wurden unterschiedlich lang zentrifugiert. Da niemals positive Ergebnisse zu verzeichnen waren, kann auf eine eingehende Schilderung dieser Versuche verzichtet werden.

Nachdem diese Experimente gescheitert waren, versuchte ich, die Symbionten durch Temperaturerhöhung auszuschalten. Schon die ersten Versuche dieser Art bewiesen, daß sie unter Hitzeeinwirkung degenerative Veränderungen zeigen. Dies war überraschend, denn die in den Tropen und Subtropen beheimateten Getreidekapuziner ließen eine gewisse Temperaturreistenz ihrer Symbionten erwarten.

Zunächst war es nötig, die obere Temperaturgrenze für die ungestörte Embryonal- und Larvalentwicklung festzulegen; dann erst war es möglich, die Temperatureinwirkung auf die Mycetome während der Metamorphose der Wirtstiere systematisch zu erfassen. Eine Versuchsserie mit Temperaturintervallen von 2—3° C gab darüber Aufschluß. Das bei 30° C innerhalb 24 Std abgelegte und nach der oben aufgeführten Methode gewonnene Eimaterial wurde in Brutschränke mit den entsprechenden Temperaturen gesetzt. Nur einwandfreie Eier fanden dabei Verwendung. Für die Entwicklung des Getreidekapuziners bei Temperaturen, die über dem Optimum liegen, ist ein höherer Wassergehalt des Korns, resultierend aus einer höheren relativen Luftfeuchtigkeit, notwendig. Infolgedessen wurde diese auch mit zunehmender Temperatur gesteigert.

Tabelle 1

Temperatur in °C	Relative Hydratur in %	Zahl der ein- gesetzten Eier	Zahl der Larven nach 15 Tagen	Zahl der Tiere nach 33 Tagen			
				Larven	Puppen	Imagines	Gesamt- zahl
30	65—75	30	26	0	1	25	26
33	65—75	30	28	0	2	25	27
36	75—85	30	26	1	1	22	24
38	85—95	30	24	2	3	19	24
40	85—95	30	17	9	3	3 ¹	12
42	85—95	30	0	—	—	—	—

¹ Tote, verkrüppelte Tiere.

Aus Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß bis 36° C die Entwicklung noch ganz normal abläuft. Auch die Temperatur von 38° C, die für *Calandra* und *Oryzaephilus* schon tödlich wirkt, zeitigte noch fast normale

Entwicklungszeiten, wenn auch bei einigen Exemplaren eine kleine Verzögerung zu verzeichnen war. Dagegen war bei 40° C die Sterblichkeit schon sehr hoch. Wie eine genauere Überprüfung ergab, waren die meisten der in den ersten 15 Tagen eingegangenen Larven bei 40° C gar nicht mehr geschlüpft, sondern voll entwickelt in der Eischale abgestorben. Vermutlich wurden die zarten Eilarven durch Wärmestarre am Schlüpfen gehindert. Fast ausschließlich wachsen die Tiere bei dieser Temperatur nur sehr langsam und in der Größe sehr unterschiedlich heran, so daß nach 33 Tagen nur drei tote, kleine, verkrüppelte Imagines angetroffen wurden. Obwohl sich später noch einige Larven zu kleinen, lebensfähigen Imagines entwickelten, mußte der Temperaturbereich von 40° C für die beabsichtigten Versuche ausscheiden. Bei 42° C kamen überhaupt keine Larven mehr zur Entwicklung.

Die oberste Grenze für die Aufzucht normaler Tiere war also bei 38° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 85—95% gegeben. Auch dabei ist, ebenso wie in anderen Temperaturstufen, ein gewisser Ausfall von Eilarven immer in Kauf zu nehmen.

2. Grad der Symbiontenschädigung bei hoher Temperatur. Nunmehr galt es festzustellen, welcher Temperaturbereich sich schädigend auf die Symbionten von *Rh. dominica* auswirkt. Dabei war es vor allem wichtig, die untere Temperaturgrenze zu bestimmen, bei der die pflanzlichen Einmieter in Mitleidenschaft gezogen werden. Dies mußte insofern mit Vorsicht geschehen, als Temperatureinwirkungen bekanntlich das morphologische Bild der Mikroorganismen mitunter verändern, ohne dabei deren Vitalität zu beeinflussen. Doch durch gründliches Studium der degenerativen Vorgänge an den Symbionten in höheren Temperaturbereichen ließ sich auch diese Schwierigkeit beheben.

Für eine reibungslose technische Durchführung der Versuche sorgte die für die Eigewinnung ausgearbeitete Methode. Wieder wurden die in die Milospalchkörner innerhalb 24 Std bei 30° C abgelegten Eier den in Tabelle 2 verzeichneten Temperatur- und Feuchtigkeitsgraden ausgesetzt. Untersucht wurden dann die unter den verschiedensten Bedingungen aufgewachsenen alten Puppen und frisch geschlüpften Imagines. Um auch die kleinsten Veränderungen an Mycetomen und Symbionten sicher erfassen zu können, war die Anfertigung vollständiger Schnittserien sämtlicher Versuchstiere nicht zu umgehen.

Die Zusammenstellung der Ergebnisse in Tabelle 2 zeigt, daß bis 32° C keinerlei degenerative Veränderungen an den symbiontischen Organen festzustellen sind. Erst 33° C übt einen geringen Einfluß auf Mycetome und Bakterien aus. Letztere sind teilweise weniger färbbar und da und dort treten auch schon die für die Degeneration typischen Bakterienklumpen auf. Etliche Vakuolen in den Syncytien deuten ebenfalls auf eine Störung hin. Sonst sind jedoch die Mycetome noch

Tabelle 2

Temperatur in °C	Relative Hydratur in %	Zahl der unter- suchten Tiere ¹	Mycetome normal	Mycetome mit			
				gerin- ger	mitt- lerer	ex- tremer	totaler
30	65—75	9	9	—	—	—	—
32	65—75	6	6	—	—	—	—
33	65—75	5	1	4	—	—	—
34—34,8	75—85	9	2	2	1	2	2
36	75—85	16	—	1	7	6	2
38	85—95	25	—	—	7	13	5
40	85—95	5 ²	—	—	—	3	2

¹ Alte, chitinierte Puppen und frisch geschlüpfte Imagines.

² Vier alte Larven und eine Puppe.

dicht mit Bakterienverbänden gefüllt und bieten bei oberflächlicher Betrachtung ein durchaus normales Bild. Somit ist bei 33° C der Schwellenwert für eine äußerst geringfügige, negative Beeinflussung der Mycetome durch Wärme ermittelt.

Ganz wesentlich unterscheiden sich von den Tieren der 33° C-Serie die Puppen und Imagines, die sich bei 34—34,8° C entwickelten. Das Ergebnis läßt sich dahin zusammenfassen, daß hier neben normalen Mycetomen solche mit Degenerationsstadien aller Grade und sogar vollkommen verödete vorkommen. Erstaunlicherweise genügt also die geringe Temperaturspanne von 1° C, um teilweise so tiefgreifende Veränderungen an den Bakterienorganen hervorzurufen.

Der schädigende Einfluß der Wärme wird bei 36° C noch offensichtlicher, denn normale Mycetome sind jetzt überhaupt nicht mehr zu beobachten. Noch eindeutiger zeigt sich dieser bei 38° C, wo die Mikroorganismen in allen Fällen einer weitgehenden Degeneration verfallen (s. Tabelle 2). Der prozentuale Anteil der restlos verödeten Mycetome liegt hier im Vergleich zu allen anderen darunter liegenden Temperaturstufen am höchsten. Für eine exakte Analyse der degenerativen Prozesse wurde daher auch 38° C als Versuchstemperatur gewählt.

Bei den aus 40° C-Versuchen stammenden Tieren darf es keineswegs überraschen, wenn schon auf dem Larvenstadium eine tiefgreifende Verödung der Mycetome Platz greift.

Die individuell so verschiedenartige Reaktion der symbiontischen Mikroorganismen im jeweils gleichen Temperaturbereich sei vorerst lediglich als Tatsache hervorgehoben. Der Versuch einer Erklärung soll der Diskussion vorbehalten bleiben.

3. Der Abbau der symbiontischen Organe. Die vorausgehenden Untersuchungen schufen die Grundlage für eine systematische Erfassung der degenerativen Vorgänge an den symbiontischen Organen. Die in

Milospalchkörner während 24 Std bei 30° C abgelegten Eier kamen bei der oben zugrunde gelegten Versuchstemperatur von 38° C und einer relativen Hydratur von 85—95 % zur Entwicklung und Aufzucht. Von Eilarven aufwärts wurden die daraus geschlüpften Tiere im Abstand von 5 Tagen histologisch untersucht. Hierbei stellte sich heraus, daß meine Methode der Eigewinnung in künstlich erzeugten Kornspalten auch den Vorzug hat, die zur Konservierung benötigten Larven leicht und in kürzester Zeit unversehrt aus den Körnern zu gewinnen. Bei nicht präparierten Körnern gestaltet sich dies mitunter recht zeitraubend und schwierig und führt leicht zu Verletzungen der Tiere. Dies ist mit meiner Methode sicher zu vermeiden, da man nur die scharnierartig verbundenen Spalthälften der Körner mit Pinzette und Nadel unter dem Binokular auseinanderzuklappen braucht. Mühelos ist dann zu erkennen, ob die eine oder die andere Hälfte des Kornes besetzt ist, denn die Larven pflegen ihre meist wiegenförmige Einbohröffnung an der Spaltfläche des Kornes mit Exkrementen zu verkitten. Mit einer Nadel wird dieser Deckel abgehoben und das Tier mit einer feinen Pinzette herausgeholt. Auch die gleichmäßige Entwicklung der Larven bei diesem Verfahren war sehr zum Vorteil für meine Versuche. Die plumpen, gedrungenen älteren Larvenstadien sind nämlich mit ihrem eingerollten Hinterleib ganz auf das Leben im Korn angepaßt und erfahren außerhalb desselben eine teilweise beträchtliche Entwicklungsverzögerung.

Vorausgeschickt sei, daß die Degeneration der Mycetome einen sehr unterschiedlichen Verlauf nimmt. Nur reichhaltiges Vergleichsmaterial von allen Altersstadien der Tiere konnte darüber genaueren Aufschluß geben.

Die Embryonalentwicklung des Getreidekapuziners erfordert bei 38° C durchschnittlich 5—6 Tage. Diese Zeit genügt, um den Mycetomen der meisten Eilarven schon den Stempel störender Einflüsse aufzuprägen. Vereinzelt sind sie schon auf diesem Stadium völlig degeneriert; daneben sind aber auch ganz normal besiedelte zu finden. Bei der Mehrzahl der Mycetome macht sich aber eine deutliche Auflockerung des Plasmas in den peripheren Bezirken und an den Grenzen der Mycetocyten bemerkbar (Abb. 2a). Sind bei einem normal besiedelten Bakterienorgan die Mycetocyten streng gegeneinander abgegrenzt, so ist hier die Grenzmembran verschwunden und kleine Vakuolen und zarte Plasma-
brücken vermitteln zwischen den Zellen. In diesen lichten Zonen liegen auch vereinzelt Bakteriengruppen, die sich durch ihre gedrungene Gestalt ganz auffällig von den im Innern der Mycetocyten befindlichen kleinen Verbänden unterscheiden. Schon allein auf Grund ihrer Lage in diesen auffällig veränderten Grenzzonen erscheint es angebracht, in ihnen die ersten degenerativen Stadien zu erblicken. Warum die Degeneration bevorzugt dort einsetzt, ist schwer zu sagen.

Auch in der Folge wird der auf diese Weise eingeleitete Degenerationsprozeß konsequent fortgeführt. Die im Eilarvenstadium noch dünnen, lichten Degenerationsstreifen erweitern sich durch die Ausbildung größerer und kleinerer Vakuolen (Abb. 2 b). Dort, wo einstmals die Degeneration ihren Anfang nahm, liegt nun von degenerierten Bakterien herrührendes Gerinnsel. Ein Einschmelzen eines Teils der Bakterien ist in allen Übergangsstadien gut zu verfolgen. Diesem Resorptionsprozeß unterliegen nicht nur die kondensierten Bakterienballen, sondern zum Teil auch die ohne Verklumpung in ihre Einzelkomponenten zerfallenen Verbände. Von allen Seiten her wird das Plasma der Syncytien zurückgedrängt und von Vakuolen abgelöst. Dem Gesamtbild nach zu schließen, spielen hierbei lytische Prozesse eine bedeutende Rolle. Im Gegensatz zu Abb. 2a schiebt sich hier die Degeneration der Symbionten auch schon in das Zentrum der Syncytien vor. In manchen Degenerationsherden beherrschen nur mehr Klumpen das Bild. Im gemeinsamen Auftreten von großen, traubigen, gesund anmutenden Verbänden mit Involutionsformen jeden Grades (s. Abb. 6d, i, p) kommt die unterschiedliche Wärmereaktion dieses Symbiontenstammes gut zum Ausdruck. Die Vergrößerung der normalerweise dünnen hyalinen Hülle um die geschädigten Symbionten erklärt deren Lage in so lichten Höfen. Die Kerne sind etwas größer als gewöhnlich. An den akzessorischen Zellen sind keinerlei Veränderungen zu registrieren.

Auf einem fortgeschrittenen Stadium der Degeneration ist es kaum mehr möglich, die für Larven so typischen Bakterienverbände zu finden (Abb. 2c). Sie sind alle, soweit nicht zu Klumpen verbacken, in ihre Einzelelemente zerfallen, welche höchstens noch durch ihre Lage ihre ehemalige Zusammengehörigkeit verraten. Ihre unterschiedliche Größe muß einerseits auf ein bei Abbauprozessen immer gegebenes, individuell variables Größenwachstum der Bakterienleiber zurückgeführt werden, andererseits ist aber auch teils die verschieden weit fortgeschrittene Resorption der Bakterien dafür verantwortlich zu machen. Daß die Auflösung des Plasmas teilweise auch schon die Zentren der Syncytien erfaßt, darf bei dem fortgeschrittenen Stand der Degeneration nicht verwundern. Was aber auf Abb. 2c besonders ins Auge fällt, ist die Häufung von kokkenartigen Gebilden in nur *einem* Syncytium, während alle übrigen nur noch ganz locker besiedelt sind. Dies erscheint sonderbar, doch findet man in der Symbioseliteratur immer wieder Angaben, welche für die funktionelle Eigenständigkeit der Syncytien in allen Entwicklungsstadien sprechen. So schildert z. B. KOCH (1931) bei *Oryzaephilus* ein Puppenmycetom, in dem die Insassen nur *eines* Syncytiums sich durch auffallend starkes Tinktionsvermögen von jenen der übrigen Mycetomfächer unterscheiden. Ähnliches konnte ich auch bei *Rhizopertha dominica* beobachten. Diese Selbständigkeit der Syncytien erklärt



Abb. 2a—e. Die Degeneration der Mycetome bei 38° C. a Mycetom einer Eilarve; *L* leichte Grenzzone der Syncytien mit den ersten Degenerationsstadien (*D*). b Larvales Mycetom: die Degeneration greift auf das Innere der Syncytien über. c Larvales Mycetom; Bakterienverbände alle zerfallen. Besiedlung der Syncytien uneinheitlich. d Mycetom einer alten Larve; starker Plasmawund und Kerndegeneration. e Mycetom einer Larve mittleren Alters; spontaner Symbiontenverfall! Restsymbionten in den akzessorischen Zellen

sich daraus, daß ja jedes Syncytium insofern eine selbsttätige, isolierte Einheit ist, als es aus ursprünglich einkernigen Zuständen hervorging. Die einer Zelle eigene Individualität erstreckt sich daher auch auf alle Lebensprozesse dieser Mycetombezirke.

Wahrscheinlich werden auch die Vorgänge in den Syncytien, ähnlich wie in der Zelle, weitgehend von den Kernen gesteuert. Dafür spricht auch ihr Verhalten in degenerierenden Mycetomen von *Rh. dominica*, das einer gesonderten Betrachtung unterzogen werden soll. Wie aber auch das Kernmaterial bei fortgeschrittener Degeneration in Mitleidenschaft gezogen wird, zeigt am deutlichsten Abb. 2d. Alle Übergänge von chromatinreichen, tiefschwarzen bis zu blassen, kaum mehr färbbaren, deutlich in Verfall befindlichen Kernen sind vorhanden. Auffallend sind auch ihre Größenunterschiede. Die Auflösung der Syncytien ist weit fortgeschritten, die Besiedlung mit kokkoiden Elementen äußerst dürftig. Übrig geblieben ist das verzerrte Abbild eines normalerweise so einheitlich aufgebauten Organs (vgl. Abb. 2d mit Abb. 1).

Die auf Abb. 3 wiedergegebene Phase des Mycetomabbaus einer Puppe läßt sich gut aus dem Stadium der Abb. 2d ableiten. Sowohl Kerne als auch Plasma haben eine weitere Einbuße erlitten. Das ganze Mycetom ist von einem plasmatischen Netzwerk mit großen alveolären Räumen erfüllt. Inmitten einer Insel dichten Plasmas liegt noch ein chromatinreicher, großer Kern, der ganz im Gegensatz zu den wenigen, unscheinbaren, kleinen Kernen des Mycetoms steht. Dort, wo sich in den Maschen des Plasmanetzes noch kleine Plasmainseln finden, behaupten sich noch Überreste zerfallener Bakterienverbände. Daß auch deren Existenz nur mehr eine Frage der Zeit ist, zeigt das total verödete Mycetom einer frisch geschlüpften weiblichen Imago auf Abb. 3a. Eine äußerst merkwürdige Erscheinung stellen seine teils blasig aufgetriebenen teils eckig konturierten, hochgradig polyploiden Riesenkerne dar. Überhaupt ist dieser Kerntyp, wenn auch nicht in diesen Dimensionen, für fast alle fortgeschrittenen Degenerationsstufen der Mycetome charakteristisch. Ein Vergleich der Abb. 3 mit Abb. 3a zeigt gut, wie unterschiedlich sich bei der Degeneration der Mycetome selbst das Syncytialplasma verhält. Allen Anzeichen nach zu schließen, darf man aber auch im Falle der Abb. 3a eine Fortführung des Auflösungsprozesses erwarten. Dem Abbau der Bakterien braucht also keineswegs eine vollständige Lyse des Plasmas — wie man sie nach Abb. 3 annehmen könnte — unmittelbar koordiniert zu sein.

Befaßten wir uns bisher nur mit dem degenerativen Verfall des Mycetominhalts, so soll nun das Verhalten seiner epithelialen Hülle während des Hitzeeinflusses einer kurzen Betrachtung unterzogen werden: Wie erinnerlich, stellt dieselbe in gesunden Mycetomen ein dünnes Plattenepithel mit kleinen, linsenförmig komprimierten Kernen dar

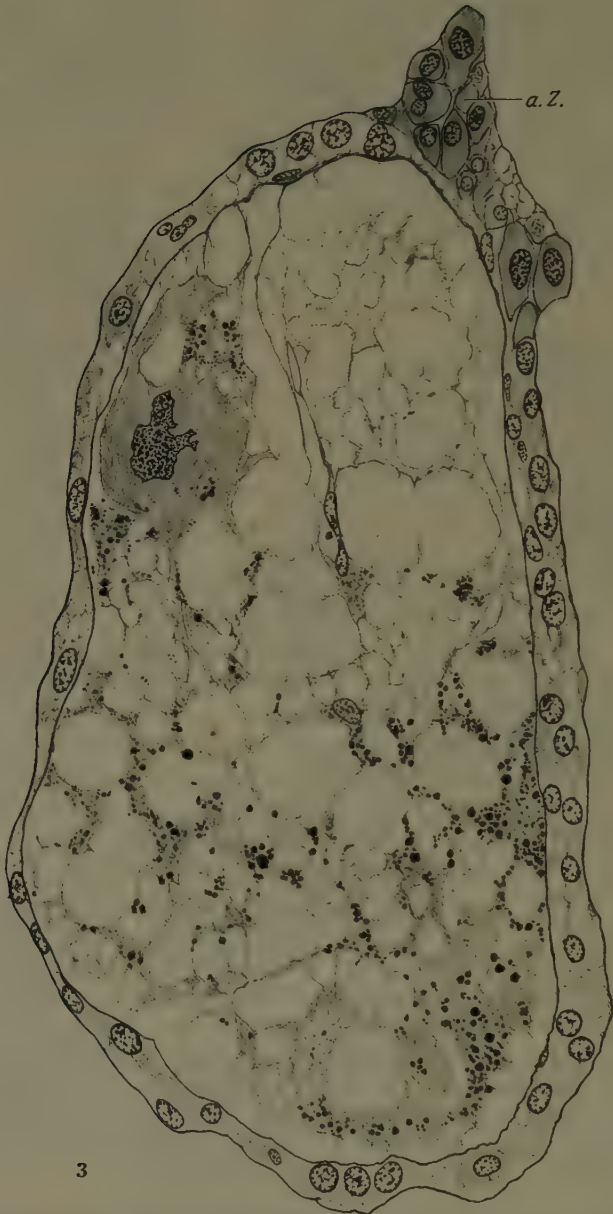


Abb. 3. Degeneriertes Mycetom einer Puppe mit Resten zerfallener Symbiontenverbände;
a. Z. akzessorische Zellmasse

(s. Abb. 1). Die Abplattung der Zellen ist mechanisch durch die prall mit Bakterien gefüllten Organe bedingt. Da aber schon in den An-

fängen der Degeneration eine merkliche Auflockerung in der Besiedlung gegeben ist, kann von der Ausübung eines Innendruckes auf das Organepithel kaum die Rede sein. Die Folge ist dessen zwanglose Entwicklung



Abb. 3 a. Total verödetes Mycetom einer frisch geschlüpften weiblichen Imago. Riesenkern!
a. Z. akzessorische Zellmasse

und Entfaltung, die anfangs, soweit sie nicht überhaupt als normal zu bezeichnen ist, in durchaus gemäßigten Grenzen verläuft. Erst später wird in der Mehrzahl der Fälle das Hüllepithel mehrschichtig und gelangt zu einer oft ansehnlichen Mächtigkeit (Abb. 3 und 3 a). Seine

Kerne sind jetzt rund oder oval und haben bedeutend an Zahl zugenommen. Sein Plasma ist schaumig strukturiert.

Ganz anders ist das Aussehen der Mycetome, wenn die Mikroorganismen schon auf sehr frühem Stadium degenerieren. Was dann am Ende der Entwicklung zurückbleibt ist ein Komplex von Hüllgewebszellen, der entsprechend der syncytialen Aufteilung der Mycetome kleine abgegrenzte Kernbezirke mit geringen Plasmaportionen in sich schließt. Dazwischen können sich alle Übergänge bis zu den Mycetomen der Abb. 3 und Abb. 3 a finden, die trotz Degeneration stark herangewachsen sind. Durchschnittlich weisen die atrophierten Mycetome aber Größen auf, die denen der Abb. 2 c und d nahekommen.

Charakteristisch für den eben beschriebenen, recht häufig beobachteten Degenerationsprozeß ist das allmähliche Fortschreiten des Symbiontenabbaus bis zur völligen Verödung der symbiontischen Organe. Es würde hier zu weit führen, auf alle Modifikationen dieses Entartungsvorgangs näher einzugehen. Doch verdient noch ein Fall, der öfter wiederkehrte, kurz geschildert zu werden: Es handelt sich dabei um einen spontanen Verfall des gesamten Mycetominhalts. Meist tritt dieser schon in den ersten Larvenstadien auf. Die Bakterien, die bis dahin eine annähernd normale Gestalt bewahrt hatten, verlieren auf einmal ihre Färbbarkeit und unterliegen dann zunehmend der Resorption (Abb. 2 e). Einzelne Komponenten hinken dabei nach. Ein Nest von kondensierten, den Infektionsformen nicht unähnlichen Bakterienzuständen hebt sich von den übrigen Verbänden deutlich ab; wieder ein Beispiel für die innerhalb eines Mycetoms mögliche Variabilität der Degeneration.

4. Vergleich der Größenentwicklung der Mycetome bei 30° C und 38° C. Die gewaltigen Unterschiede im Wachstum der Mycetome von Tieren, welche sich bei 30° C bzw. 38° C entwickelten, wurden in einer Reihe von Messungen festgelegt und aus deren Mittelwerten die Volumina der symbiontischen Organe gleicher Entwicklungsstadien der Tiere errechnet. Ein eindrucksvolles Bild von diesen Verhältnissen vermittelt die graphische Darstellung auf Abb. 4. In dem kontinuierlichen Wachstum normal besiedelter Mycetome aus 30° C zeigt sich gut die hohe und stark ansteigende Teilungsfrequenz der Symbionten. Nicht immer vermag diese aber der Größenzunahme der Mycetome voll gerecht zu werden. Bekanntlich wachsen gesunde symbiontische Organe in den ersten Larvenstadien sehr rasch heran, so daß die Bakterien in der Vermehrung nicht mehr Schritt halten können. Die Folge dieser Entwicklung sind teils sehr aufgelockerte Besiedlungsverhältnisse (s. Abb. 1). Dieser Zustand dauert jedoch nicht lange, denn bald haben die Bakterien durch intensive Vermehrung die entstandenen Lücken wieder aufgefüllt. Durch die Feststellung der Mycetomvolumina im Laufe der Entwicklung

wird aber offensichtlich, daß ihnen diese Leistung durch ein zu dieser Zeit vermindertes Wachstum der Bakterienorgane erleichtert wird (siehe erster Knick in der 30° C-Kurve!).

Die unter Hitzeeinwirkung sich entwickelnden Mycetome sind schon in der Eilarve kleiner, zeigen aber bis etwa zum dritten Larvenstadium noch eine langsam ansteigende Größenzunahme. Mit durchschnittlich 100 μ Länge und 70 μ Breite erreichen sie ihre maximale Ausdehnung. Bis zum Puppenstadium ist dann nur ein verhältnismäßig geringer Schwund zu verzeichnen. Erst gegen Ende der Entwicklung nimmt die Größe weiter ab. Dadurch kommen schließlich diese krassen Unterschiede im Volumen der Mycetome adulter Tiere aus 30° C und 38° C zustande.

Unter diesen Umständen wird es auch verständlich, warum die kleinen degenerierten Mycetome besonders auf fortgeschrittenem Entwicklungsstadium der Tiere gerne etwas kaudal-ventral verlagert sind. Die sonst während der Entwicklung übliche, mechanisch bedingte Wanderung der Mycetome nach vorn schreitet also bei der Kleinheit der degenerierten Bakterienorgane nicht so weit voran. Gelegentlich lagen auch bei Puppen und Imagines aus 38° C beide Mycetome weit auseinander, das eine im Metathorax, das andere tief im Abdomen.

5. Die Reaktion der Mycetomkerne auf erhöhte Temperatur. Das Hülleepithel bleibt als einziger Bestandteil des symbiontischen Organs von den Degenerationsprozessen verschont. Man könnte fast von einer Bevorzugung sprechen, nachdem es sich in den meisten Fällen sogar mehrschichtig entwickelt. Dadurch kann es seiner Aufgabe, die in Verfall begriffenen Syncytien gegenüber dem Gesamtorganismus abzusichern, nur um so besser gerecht werden.

In den Syncytien dagegen gibt es kaum eine Stelle, die nicht früher oder später, vermutlich durch autolytische Vorgänge bedingt, deutliche Spuren der Schädigung aufweist. Bezeichnend ist dabei das Verhalten der Kerne. Serienmessungen an Mycetomkernen von Normaltieren in den verschiedensten Entwicklungsstadien einerseits und solchen von

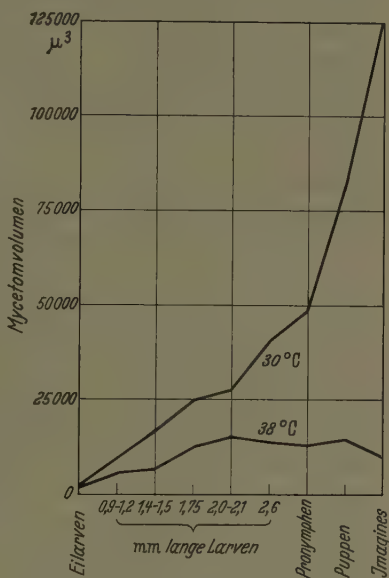


Abb. 4. Graphische Darstellung der Mycetomvolumina verschiedener Entwicklungsstadien der Tiere aus 30° C und 38° C

Tabelle 3

Art und Größe der Tiere in mm	Mittelwerte der Kerngrößen bei 30 °C in μ	Aussehen der Kerne bei 30 °C	Mittelwerte der Kerngrößen bei 38 °C in μ	Aussehen der Kerne bei 38 °C
Eilarven	$4,18 \times 3,75$ $(3 \times 2,5)^2$ $(6 \times 5)^3$	rund-oval	$3,0 \times 2,96$ $(2,5 \times 2,5)^2$ $(3,5 \times 3,5)^3$	rund-oval
0,7 ¹	$4,07 \times 3,69$ (3×3) (6×5)	rund-oval	$5,13 \times 3,75$ $(3,5 \times 3,5)$ $(9 \times 4,5)$	rund-oval
0,9—1,1 ¹	$5,91 \times 5,38$ (3×3) (8×7)	rund-oval	$6,73 \times 5,51$ (5×4) $(16 \times 9,6)$	rund-oval buckelig
1,2 ¹	$5,57 \times 3,85$ (5×3) (9×4)	rund-oval keilförmig	$11,0 \times 6,64$ $(4,8 \times 4,8)$ $(15,4 \times 8,0)$	rund-oval bizarr
1,5 ¹	$5,2 \times 3,9$ $(3 \times 2,5)$ (7×5)	rund-oval spitzkeulig	$11,1 \times 7,3$ $(5,0 \times 4,8)$ $(18 \times 9,7)$	rund-oval buckelig bizarr
1,7—1,75 ¹	$6,06 \times 4,18$ (4×4) (8×5)	rund-oval buckelig nierenförmig	$11,4 \times 6,8$ (6×6) (21×7)	rund-oval buckelig bizarr
1,8—1,9 ¹	$6,25 \times 5,0$ (4×3) (8×6)	rund-oval keulig	$12,79 \times 8,4$ $(4,8 \times 4,8)$ (18×10)	rund-oval lanzettlich bizarr
2,0—2,1 ¹	$6,64 \times 5,35$ (4×3) (8×7)	rund-oval spitzkeulig	$12,9 \times 6,5$ $(8 \times 7,5)$ $(24 \times 4,5)$	rund-oval keulig bizarr
2,6 ¹	$8,25 \times 5,62$ (5×5) (14×6)	rund-oval polymorph	$13,5 \times 6,6$ (7×6) (30×6)	rund-oval bizarr
Pronymphen	$7,66 \times 5,83$ (5×5) (10×6)	rund-oval gedellt polymorph	$12,2 \times 7,4$ (7×4) (15×8)	rund-oval polymorph
Puppen	$9,36 \times 4,7$ (7×4) (16×5)	rund-oval buckelig bizarr	$12,2 \times 7,33$ (9×4) (14×7)	polymorph bizarr
Imagines	$11,8 \times 4,5$ (7×5) (23×3)	rund-oval buckelig bizarr	$14,67 \times 7,4$ $(4,5 \times 3)$ (45×12)	buckelig polymorph bizarr

¹ Larven. ² Minimalwert. ³ Maximalwert.

Wärmetieren andererseits sollen Aufschluß über die unter experimentellen Bedingungen ausgelösten Kernveränderungen erbringen. Gemessen wurde jeweils die größte Länge und Breite eines Kernes. Die aus der Vielzahl der Messungen gewonnenen Mittelwerte sind mit den dazugehörigen Maximal- und Minimalwerten in Tabelle 3 zusammengefaßt. Es ist festzuhalten, daß bei Normaltieren der rund-ovale Kerntyp wäh-

rend der ganzen Entwicklungszeit, vorwiegend aber bis etwa zum dritten Larvenstadium, anzutreffen ist. Dazwischen treten schon frühzeitig keilförmige, buckelige und keulige Elemente auf, die zum Teil schon bei alten Larven von polymorphen und später bizarren Kerntypen abgelöst werden (s. BUCHNER 1954, Abb. 40). Bei Wärmetieren dagegen dominieren diese buckeligen, pleomorph-bizarren Kernelemente schon auf viel früheren Entwicklungsstadien. Wie Tabelle 3 zeigt, verläuft deren Ausbildung synchron mit einem anormalen Anwachsen. Schon bei Larven mit 1,2 mm Länge entspricht die durchschnittliche Kerngröße in den Mycetomen ungefähr jener von wesentlich älteren Normaltieren.

Es wäre denkbar, daß mit diesem Vorseilen in der Entwicklung der Kerne eine Leistungssteigerung der Syncytien und damit eine Erhöhung der Resistenz gegen die schädigenden Einflüsse verbunden ist. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß dieser Wachstumsimpuls ja bereits zu einem Zeitpunkt erfolgt, auf dem die degenerativen Prozesse noch nicht so weit gediehen sind, um darin die einleitenden Schritte zur Kerndegeneration sehen zu müssen. Zudem machen die Kerne in den meisten Fällen einen durchaus normalen Eindruck.

Erst wenn der Bakterienverfall weiter voranschreitet und die lytischen Prozesse in den Syncytien überall spürbar werden, tritt auch die für die Zelldegeneration typische Karyopyknose auf. Diese kann alle Kerne eines Mycetoms oder auch nur einen Teil derselben erfassen (Abb. 2d). Erst bei fortgeschrittenem Verfall der Syncytien verlieren die Kerne an Färbbarkeit, teils auch ohne vorher pyknotisch geworden zu sein, und obliterieren auf diese Weise (Abb. 2d). Andere wiederum überdauern den Degenerationsprozeß und wachsen zu polyenergiden, blasig-pleomorphen (Abb. 3a) oder bizarr ausgezackten Kernformen heran. Überhaupt ist das unterschiedliche Verhalten der Kerne nur im Zusammenhang mit der schon geschilderten Variabilität des Mycetomabbaus zu verstehen.

Auffallend ist, daß die Lyse des Plasmas und der Symbiontenverfall auch oft bevorzugt im Umkreis degenerierender Kerne einsetzt. Dadurch entstehen um dieselben kleine Vakuolenkränze. Ob man hierbei an eine von den Kernen ausgehende Reaktion denken kann, bleibt dahingestellt. Sie wäre mitunter möglich, nachdem auf diesem Stadium die Kern-Plasma-Korrelation ohnehin schon auf das empfindlichste gestört ist. Andererseits könnte auch die Umgebung der Kerne, ähnlich den Grenzen der Syncytien, eine besonders sensible Zone darstellen.

Die in Tabelle 3 verzeichneten Meßwerte gewinnen durch die graphische Darstellung (Abb. 5) an Übersicht und Anschaulichkeit. Auch die bei der Errechnung der Mittelwerte aufgetretenen Maximal- und Minimalwerte sind in gestricheltem bzw. liniertem Umriß eingezeichnet. Bei den Normaltieren ist eine im großen und ganzen ausgeglichene Kern-

entwicklung festzustellen. Kleine Schwankungen haben in den Vermehrungsvorgängen ihren Grund. Ein Vergleich der Tiere beider Temperaturstufen zeigt, daß bei 38° C bis zum Eilarvenstadium eine anfängliche Hemmung im Kernwachstum vorliegt, die aber anschließend in vollem Umfange wieder wettgemacht wird. Dies geht sogar so weit, daß die Mycetomkerne von Larven mit einer Durchschnittslänge von 1,2 mm plötzlich sehr stark an Volumen zunehmen, was oben schon als eine Art

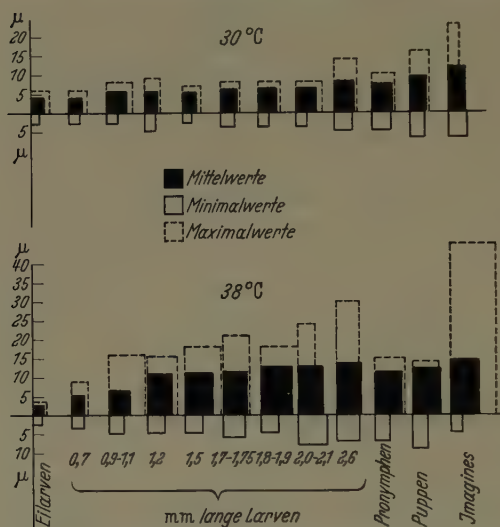


Abb. 5. Größenvergleich der Mycetomkerne von Tieren verschiedener Entwicklungsstadien aus 30° C und 38° C

nimmt das Kernmaterial an Größe stark zu. Zwei völlig entgegengesetzte Entwicklungsvorgänge spielen sich also hier in einem Organ gleichzeitig ab.

Das Aussehen der erwähnten verblaßten Kerne erinnerte bisweilen sehr an merkwürdige Gebilde, die BUCHNER (1954) hin und wieder in den Mycetomen von *Rhizopertha* beobachten konnte. BUCHNER schreibt: „Gelegentlich begegneten mir in larvalen Syncytien seltsame Einschlüsse, über deren Natur ich nichts aussagen kann. Es handelt sich um große kugelige Gebilde, die sich mit Hämalaun nur blaß färben, und denen meist mehrere der Kerne des Syncytiums anliegen (Abb. 38).“ Die Betrachtung des Habitusbildes dieser Einschlüsse mit ihrer distinkten Membran und ihrem relativ dicht gelagerten grauen Inhalt zwingt auf Grund der bei den Degenerationsstudien gemachten Erfahrungen zu einem Vergleich mit den erst pyknotisch gewordenen und dann verblaßten Kernen. Nachdem wir über die Beziehungen zwischen Symbionten und Syncytien so wenig wissen, können wir vorerst über die Hinter-

„Gegenreaktion“ gedeutet wurde. Von nun an sind sie denen von 30° C-Tieren an Größe weit überlegen. Es sei dabei besonders auf den ungewöhnlichen Maximalwert eines adulten Wärmetieres hingewiesen, der mit dem fladenartigen Auswachsen solcher Rieskerne zusammenhängt.

Interessant ist ein Vergleich der graphischen Darstellungen der Mycetom- und Kerngrößen von 30° C- und 38° C-Tieren (s. Abb. 4 u. 5). Während bei 38° C die Mycetome immer kleiner werden,

gründe dieses Verhaltens nichts aussagen. Schon wiederholt wurde von irgendwelchen auffälligen Erscheinungen in den Syncytien berichtet. So stieß z. B. BUCHNER ebenfalls bei *Rhizopertha* auf ein Syncytium eines Mycetoms, in dem die sich sonst amitotisch vermehrenden Kerne Mitosen zeigten.

6. Die Degeneration der symbiontischen Mikroorganismen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit in der Darstellung blieben bisher die Degenerationsvorgänge an den Symbionten weitgehend unberücksichtigt. Auf Abb. 6 sind nun die verschiedenen Wege der Symbiontendegeneration zusammenfassend dargestellt. Nur genauestes Studium der Symbionten in degenerierenden Mycetomen verschiedener Altersstadien konnte an Hand eines reichhaltigen Schnittmaterials dabei gewisse einheitliche Linien entstehen lassen. Sehr vorteilhaft erwies sich bei der Analyse dieser Vorgänge das Arbeiten mit einem binokularen Mikroskop. Auf Ausstrichpräparate wurde bewußt verzichtet, da sie bei der räumlichen Anordnung der Symbiontenverbände ein verändertes Bild ergeben würden. Zudem war es kaum möglich, die kleinen degenerierenden Mycetome junger Larven zu präparieren. Nur in Schnittpräparaten blieb die tatsächliche Struktur der Mikroorganismen gut erhalten, weshalb der Abb. 6 auch nur solche zugrunde gelegt wurden.

Wir gehen von normalen Symbiontenverbänden junger Larven aus (Abb. 6 a) und verfolgen deren Verhalten während der Entwicklung der Tiere bei 38° C. In den meisten Fällen macht sich der Beginn des Wärmeinflusses durch ein deutlich gesteigertes Tinktionsvermögen bemerkbar. Das weitere Verhalten ist dann sehr unterschiedlich. Bezeichnend für junge Larven ist das uneinheitliche Anwachsen der einzelnen Komponenten eines Verbandes (Abb. 6 b). Während ein Teil der Glieder noch ganz normal ist, nehmen die anderen an Größe laufend zu. Ich sehe hierin das Ergebnis eines frühzeitig gestoppten Vermehrungsvorgangs. Bekanntlich vermehren sich ja diese Verbände durch Auswachsen der Einzelkomponenten in neue Verbände und anschließender Trennung vom Mutterverband. Die Verbände mit ungleich großen Gliedern vermögen weiterhin zu umfangreichen Komplexen anzuwachsen, bei denen der Unterschied noch sinnfälliger wird (Abb. 6 c). Sie entsprechen sicherlich den bei Larven mittleren Alters auftretenden Riesenverbänden (s. Abb. 1). Ihre weitere Entwicklung kann nun zwei verschiedene Wege einschlagen. Einmal besteht die Möglichkeit, daß sie sukzessiv verblassen und anschließend zerfallen (Abb. 6 d). Die kleineren Elemente verlieren dabei zuerst an Färbbarkeit und werden auch bald resorbiert. Zu Häufchen angeordnet liegen dann die Fragmente des ehemaligen Verbandes inmitten eines lichten Hofes des Syncytialplasmas. Dies läßt auf das Vorhandensein einer ansehnlichen Schleimhülle schließen (s. Abb. 2 b). Andererseits können aber diese großen Verbände (Abb. 6 e)



Abb. 6a—s. Die verschiedenen Wege der Bakteriendegeneration bei 38° C in ihrem morphologischen Erscheinungsbild. Erklärung im Text

weiterhin anwachsen und schließlich zu vielgestaltigen Haufen verklumpen (Abb. 6e). Daraus ist ersichtlich, daß sie ihre Teilbarkeit nach wie vor besitzen. Solche Bakterienkonglomerate treten im Myce-

tom nur vereinzelt auf. Erst auf spätem Entwicklungsstadium verblassen sie und zerbröckeln dann allmählich.

Machen sich die schädigenden Einflüsse der Wärme zu einem Zeitpunkt bemerkbar, da die einzelnen Elemente eines Verbandes sich gerade anschicken Tochterverbände zu bilden (Abb. 6f), so sistiert entweder das Wachstum auf den himbeerförmigen Stadien der Einzelglieder und an dessen Stelle tritt der Abbau (Abb. 6h), oder aber die stark aufgetriebenen Komponenten verklumpen unter Zuwachs immer mehr und bilden zuletzt wieder die schon unter Abb. 6e bekanntgewordenen Degenerationskonglomerate (Abb. 6g).

Die wichtigsten der aus den Degenerationswegen 6d und 6h hervorgegangenen Bakterienformen sind unter Abb. 6i zusammengestellt. Gesunde Verbände besiedeln mit Verbandsfragmenten und Modifikationsformen verschiedener Gestalt und Größe das Mycetom. Da dieser Zustand schon auf relativ frühem Entwicklungsstadium erreicht sein kann, muß uns das weitere Schicksal dieser offenbar resistenteren Symbiontentypen interessieren. Es wäre irrig anzunehmen, daß sie bereits alle abgestorben sind und ihre Teilbarkeit eingebüßt haben. Wohl degenerieren bei einigen Tieren letzten Endes alle Symbionten in den Mycetomen, bei anderen aber bleibt doch ein gewisser Anteil davon noch so vital, daß er imstande ist, die üppigsten, für diese Symbiontenzustände völlig anormalen Wuchsformen hervorzubringen. Verbände mit auffallend ungleichen Komponenten sind nicht selten (Abb. 6k). Was aber besonders überrascht, sind die mitunter auftretenden Ketten dicht aneinandergereiht, kleiner, kokkoider Elemente (Abb. 6l). Mit den von BUCHNER (1954) bei der Degeneration der männlichen Mycetome von *Rhizopertha* beschriebenen „feinen Fädchen“ sind diese wohl kaum in Beziehung zu setzen, denn BUCHNER sieht in denselben Einschlüsse stark gefärbter degenerativer Schollen. Hier aber liegt ein deutlicher, linear verlaufender Vermehrungsvorgang vor. Noch sonderlicher müssen uns die unter Abb. 6m dargestellten dickgliedrigen Ketten mit ihren Verzweigungen erscheinen, die aus dem Mycetom eines adulten Weibchens entnommen wurden. Hierin kommt noch einmal zum Ausdruck, welch umwälzende Modifikationen der Einfluß der Wärme im Bauplan der Mikroorganismen hervorzurufen vermag.

Nicht immer wird aber die Grundgestalt der Symbionten so tiefgreifend verändert, wie das unter Abb. 6b—m aufgezeigt ist. Ein weit einfacherer Weg wird oft darin beschritten, daß die tropfenförmigen Bestandteile der Verbände sich ablösen (Abb. 6n), mehr oder minder kokkoide Form annehmen, verblassen (Abb. 6o) und sich dann auflösen (Abb. 6p). Dies vollzieht sich also ohne vorherige gestaltliche Veränderung der Bakterien. Andere Verbände wiederum verblassen spontan und werden auch rasch abgebaut (Abb. 6q—s; s. Abb. 2e).

Diese so unterschiedliche Reaktion der Symbionten von *Rhizopertha* auf erhöhte Temperatur hängt wohl sehr mit der Ausbildung thermo-resistenter Formen zusammen, mit der wir uns noch zu befassen haben.

7. Das Verhalten der akzessorischen Zellen bei erhöhter Temperatur. Über die Herkunft der akzessorischen Zellen vermutet BUCHNER (1954), daß es sich wahrscheinlich um die rudimentäre Wohnstätte eines zweiten, wieder verlorengegangenen Symbionten handelt. Mehrere Gründe sprechen für diese Annahme: Einmal stellen sie genetisch ein den regulären Mycetocyten homologes Zellmaterial dar; ferner haben sie die Tendenz Symbionten aufzunehmen, wenn auch diese Besiedelung nur von kurzer Dauer ist. Wichtig in diesem Zusammenhang ist auch ihre Lagebeziehung zu den Mycetomen. Unwillkürlich drängt sich dabei ein Vergleich mit den so nahe verwandten Lyctiden auf. KOCH (1936) beschrieb bei *Lyctus linearis* G. Mycetome, die in getrennten syncytialen Bezirken zwei schon in ihrem Habitus äußerst unterschiedliche Sorten von Mikroorganismen beherbergen. Fast die gleichen topographischen Beziehungen wie hier konnte BUCHNER zwischen Mycetom und akzessorischer Zellmasse von *Rhizopertha* während der Embryonalentwicklung feststellen. Solche Parallelen, denen das enge verwandtschaftliche Verhältnis der beiden Käferfamilien der Bostrychiden und Lyctiden eine besondere Note verleiht, lassen die Richtigkeit der BUCHNERSchen Vermutung über die Bedeutung der akzessorischen Zellen fast über jeden Zweifel erhaben erscheinen, dies um so mehr, als wir über einen solchen sekundären Symbiontenverlust noch analoge Beispiele anführen können: So ist die brasilianische Psyllide *Strophingia ericae* CURT. im Gegensatz zu allen anderen bisher untersuchten disymbiontischen Psylliden nur monosymbiontisch. Ebenso sind bei *Trioza spec.* nur mehr die einkernigen Mycetocyten besiedelt, während die Syncytien völlig frei von Bakterien sind (PROFFT 1937). In jedem Fall werden aber die Wohnstätten des eliminierten zweiten symbiontischen Partners weiterhin in rudimentärer Form reproduziert.

Angesichts dieser engen Beziehungen zum Mycetom wurde dem Verhalten der akzessorischen Zellen während der Mycetomdegeneration besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Wie berichtet, nehmen dieselben gelegentlich restliche Bakterien auf, die bei der Besiedlung der Mycetome zurückbleiben. Diese Einzelgänger kommen aber dort nicht zur Vermehrung. Vielleicht ist dafür der im Vergleich zum Mycetom sicherlich andersartige physiologische Zustand der akzessorischen Zellen verantwortlich zu machen. Auch könnte es an der zu geringen Dichte der zur Aussaat kommenden Keime liegen. Für ersteres spricht die streng gesonderte Besiedelung der embryonalen Mycetocyten bei di-, tri- und polysymbiontischen Formen, für letzteres Erfahrungen, die GRÄBNER (1954) an Anobiidensymbionten gemacht hat. Unter Umständen spielt

sogar beides zusammen. Bei alten Larven sind diese Restsymbionten in den akzessorischen Zellen meist verschwunden. Eine Übersiedlung ins Mycetom ist wohl kaum anzunehmen. Es ist viel naheliegender, daß sie bis dahin degeneriert sind. Gerade deshalb überraschte ihre Reaktion auf Hitze sehr: Sie degenerieren nämlich unter Wärmeeinfluß nicht vorzeitig, ja vermögen diesem sogar länger standzuhalten als die regulären Mycetomsymbionten. Während oftmals in den Mycetomen der Bakterienverfall und die Lyse des Plasmas schon weit vorangeschritten waren, zeigten diese versprengten Symbionten in den akzessorischen Zellen noch ihr gewöhnliches Aussehen (Abb. 7; s. auch Abb. 2e!). Welche Schlüsse sich daraus für die Symbiontendegeneration ergeben, werden wir später im Zusammenhang mit einer anderen Beobachtung noch erörtern.

Das Größenwachstum der akzessorischen Zellen litt keineswegs unter den Wärmeeinflüssen, so daß die sonst als nebensächliches kleines Anhängsel der Mycetome erscheinende Zellgruppe diese oftmals an Größe erreichte bzw. sogar übertraf.

8. Das Verhalten adulter Wärmetiery bei 30° C und 38° C. Die Entwicklung des Getreidekapuziners geht in Anpassung an seinen Lebensbereich in den Tropen und Subtropen bei 38° C und 85—95 % relativer Hydratur noch gut vor sich. Jedoch ergeben sich im Verhalten der Imagines bei dieser Temperaturstufe im Vergleich zu 30° C schon deutliche Unterschiede. Zeichnen sich die Käfer bei Normaltemperatur neben ihrer ungezügelten Freßgier noch durch eine beträchtliche Schroterzeugung aus, so tritt letztere bei 38° C schon merklich in den Hintergrund, um bei 40° C ganz eingestellt zu werden. Es liegt also eine Aktivitätsminderung in diesen Temperaturbereichen vor.

Ein anderer Unterschied, der bei Tieren auftrat, die bei 30° C bzw. 38° C zur Entwicklung kamen, war mitbestimmend für die technische Abwicklung einiger Versuche: Normalerweise beginnen die Weibchen bei 30° C 10—14 Tage nach dem Schlüpfen mit der Eiablage. Im Gegensatz dazu kommt bei Tieren, die sich bei 38° C entwickelten, die Eiablage meist nicht in Gang, wenn sie weiterhin dieser Temperatur ausgesetzt sind. Erstaunlich ist, daß dies auch dann nicht geschieht, wenn die in der Entwicklung etwas nachhinkenden Gonaden zur vollen Reife gelangt

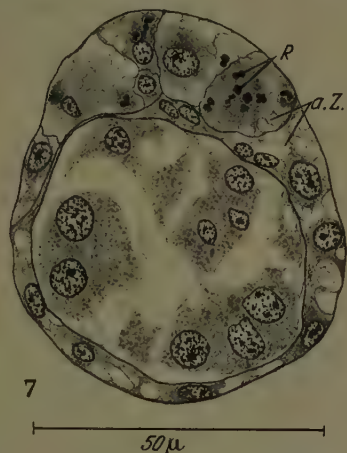


Abb. 7. Mycetom einer Larve mittleren Alters; Restsymbionten (*R*) in den akzessorischen Zellen (*a. Z.*) noch normal, dagegen im Mycetom schon stark degeneriert

sind und das Abdomen prall mit Eiern gefüllt ist. Senkt man jedoch die Temperatur auf 30° C, so beginnen die Weibchen in relativ kurzer Zeit, mit geringen individuellen Unterschieden, Eier zu legen. Merkwürdigerweise sind aber die im ersten Schub produzierten Eier teils taub teils entwickeln sie sich noch eine Weile und sterben dann ab. Es ist natürlich naheliegend, diese Erscheinung in kausale Beziehung zur Degeneration der Mycetome zu setzen. Doch die weitere Untersuchung dieser Angelegenheit belehrt bald eines anderen. Die entwicklungsunfähigen Eier werden nämlich nach etwa 5—10 Tagen von gesundem, prall gefülltem Eimaterial mit normalen Entwicklungszeiten abgelöst. Die daraus hervorgehenden Tiere sind vital und lebensfähig. Es war mir im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, den Ursachen dieser Entwicklungsstörung der Eier nachzugehen. Denkbar wäre es, daß sie in Zusammenhang mit dem vielleicht gestörten Mechanismus der Reifeteilung stehen (?).

VI. Die Mycetombesiedlung bei Nachkommen von Wärmetieren

Wie oben schon dargelegt, erreicht die Verödung der Mycetome der bei 38° C geschlüpften Tiere sehr unterschiedliche Stadien. Es fragt sich nun, in welcher Form und in welchem Ausmaße diese Störungen mitbestimmend sind für die Mycetombesiedlung der folgenden, bei 30° C sich entwickelnden Generationen? Wie sehen die symbiontischen Organe bei den Nachkommen von Tieren aus, deren Mycetome ganz oder nur teilweise in verschiedenen Graden verödet sind? Sind die durch Temperatureinflüsse modifizierten Mikroorganismen in der Lage, Migrationsstadien zu bilden und so die Infektion des Eimaterials zu ermöglichen? Besitzen sie noch die Vermehrungspotenz, um einer geregelten Ovarialinfektion gerecht zu werden, oder sind sie bereits abgestorben? Auf diese und ähnliche, im Rahmen dieser Untersuchungen sehr wichtige Fragen konnte nur wieder eine genaue histologische Analyse der Mycetome eine Antwort geben. Manches, was sich dabei zeigte, war überraschend und steht *einmalig* unter den bisherigen Ergebnissen der experimentellen Symbioseforschung da. In einer Versuchsreihe, bei der 25 F₁-Individuen von Wärmetieren (38° C) geprüft wurden, waren folgende Möglichkeiten verwirklicht:

F ₁ -Tiere mit symbiontenfreien Mycetomen	6
F ₁ -Tiere mit einem einzigen Bakteriengröppchen im Mycetom . .	6
F ₁ -Tiere mit mehreren Klumpen und modifizierten Bakterienelementen im Mycetom	5
F ₁ -Tiere mit Modifikationsformen der Symbionten bzw. auch Verbänden derselben locker besiedelt	8

Dieses Ergebnis läßt sich aus den unterschiedlichen Degenerationsstadien der Mycetome der P-Generation am Ende der Entwicklung bei 38° C verhältnismäßig gut ableiten (s. Tabelle 2). Man muß aber dabei annehmen, daß selbst Tiere mit extrem verödeten Mycetomen,

bei denen nur mehr Reste von zerfallenen Verbänden und klumpige Konglomerate nachweisbar sind, noch eine Reserve von infektionstüchtigen Keimen besitzen. Versuche, bei denen F_1 -Tiere mit minimaler Besiedlung der Mycetome und ihre Nachkommen untersucht wurden, bestätigten dies durchwegs. Von der Besiedlungsdichte der Filialgeneration kann man somit weitgehende Schlüsse auf jene der Parentalgeneration und umgekehrt ziehen. Lediglich Tiere, die nur mehr ein von zerfallenen Bakterien herrührendes Gerinnsel, das stark an Bakterenschutt erinnert (RIES 1931), in ihren Mycetomen beherbergen, können in der F_1 -Generation mitunter Individuen hervorbringen, welche auf einem späteren Entwicklungsstadium ganz verödete symbiontische Organe besitzen. Diese gleichen aber in ihrem Aufbau einem Teil der Mycetome, die eine dünne Besiedlung mit modifizierten Bakterien zu verzeichnen haben: An die Stelle der Syncytien ist eine einheitliche, stark vakuolisierte Plasmamasse („Synsyncytium“) mit vielen polymorphen Kernen getreten (Abb. 8); das Hülleepithel ist deutlich und gut entwickelt. Daraus geht hervor, daß ursprünglich etwas morbides Erbgut vorhanden war, welches während der frühen Entwicklungsstadien noch einen gestaltenden Einfluß auf die Mycetome ausübte, dann aber selbst der Degeneration verfiel. Von den akzessorischen Zellen vermissen wir die sonst für das Puppenstadium bezeichnende innige Lagebeziehung zum Mycetom, was wahrscheinlich durch die anormale Entwicklung desselben bedingt ist.

Einen ganz anderen Typ symbiontenfreier Mycetome von Nachkommen der Wärmetiere stellt uns Abb. 8a vor. Diese bestehen nur mehr aus einem kleinen Haufen von Zellen ohne jegliche Differenzierung von Mycetombestandteilen. Fast das gleiche Aussehen zeigen sterile Mycetome von *Oryzaephilus* und *Calandra* (KOCH 1936, SCHNEIDER 1956). Die im Gegensatz zu Abb. 8 diesmal runden bis ovalen Kerne sind ein Beweis dafür, daß sie völlig unbeeinflußt von Symbionten sind. An einer Seite dieses sterilen Zellhaufens schmiegt sich die akzessorische Zellmasse mit ihrem dichten, homogenen Plasma an. Wenn bei adulten Tieren die Gonaden auf dem Höhepunkt der Entwicklung stehen, ist es sehr schwierig, wenn nicht gar unmöglich, diese kleinen, inzwischen meist mechanisch deformierten Zellkomplexe wiederzufinden.

Solche Mycetome der F_1 -Generation berechtigen zu der Meinung, symbiontisch vollkommen sterile Tiere vor sich zu haben. Daß dies jedoch ein Trugschluß ist, beweisen gleich die weiteren Untersuchungen.

An Hand der bisherigen Erfahrungen (*Oryzaephilus*: KOCH 1936, *Calandra*: SCHNEIDER 1956) war zu erwarten, daß sich die Reproduktion steriler Mycetome auch in allen folgenden Generationen vollzieht. Natürlich würde dies die Lebenstüchtigkeit symbiontenfreier Tiere voraussetzen. Zur größten Überraschung stellte sich jedoch heraus, daß bei

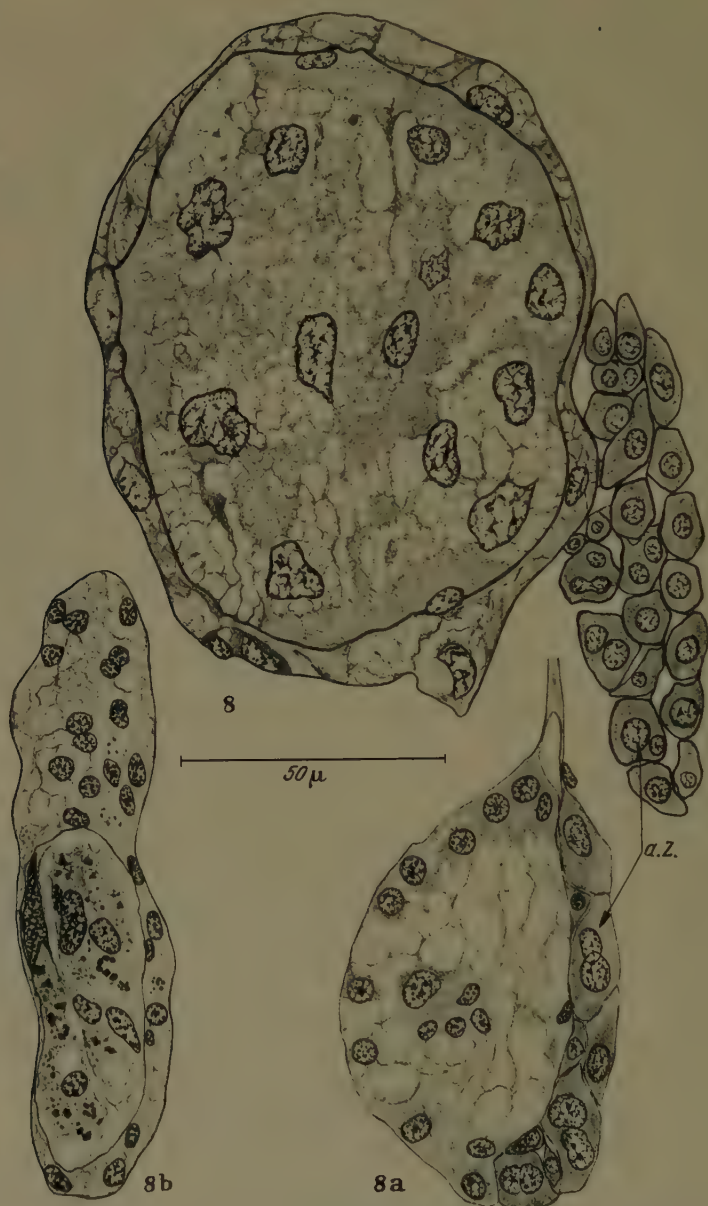


Abb. 8—8b. Mycetome von Nachkommen der Wärmetiere (38° C). Abb. 8 Vollkommen verödetes Puppenmycetom mit gut entwickeltem Hüllepithel. Abb. 8a Steriles Larvalmycetom in Form eines Zellkomplexes; a. Z. akzessorische Zellen. Abb. 8b Wiederbesiedeltes Mycetom einer weiblichen Imago

Rhizopertha die Sterilität der Mycetome im Höchstfall nur für zwei Generationen gewahrt bleibt. Es treten nämlich entweder schon in der

F₂-, sicher aber in der F₃-Generation — ausgehend von P-Wärmetieren — wieder Spuren von Bakterien in den Mycetomen auf. Dabei handelt es sich keineswegs um die für Normaltiere typischen Verbände, sondern bestenfalls um diesen nur teilweise ähnliche Bakterienzustände. Alle möglichen Varianten: Kokkenkonglomerate, polymorphe Klumpen, Kettenverbände, kokkoide Einzelelemente in verschiedener Färbbarkeit und Größe sowie undefinierbares, an Bakterienerschutt erinnerndes Gerinnsel waren in diesen spärlich besiedelten Mycetomen zu finden (Abb. 8b). Wie erinnerlich, begegneten wir den gleichen Elementen schon einmal bei der Degeneration der symbiontischen Organe. Nun erst wissen wir, daß sich damals mit der Ausbildung der vielen Modifikationsformen (s. Abb. 6i, k, l) zugleich der Erwerb der Hitzestabilität verband. Kann schon die Bakterienvermehrung mit den in den ersten Larvenstadien im Wachstum vorseilenden gesunden Mycetomen kaum Schritt halten, so daß die Besiedlung zeitweilig sehr locker ist, so ist das bei den wiederbesiedelten Bakterienorganen erst recht der Fall. Wenngleich diese bei adulten Tieren samt dem meist gut entwickelten Hüllgewebe etwa nur $\frac{1}{3}$ der normalen Größe erreichen, bleibt doch für mehrere Generationen die Besiedlungsdichte sehr gering. Die Bakterien sind offenkundig in ihrer Vermehrung stark gehemmt. Überhaupt hat man vielfach den Eindruck, als ob sie nur zu dieser oder jener der genannten Formen auswachsen, um dann auf diesem Stadium zu verharren. Es ist ausgeschlossen, daß diese kümmerlichen Besiedlungsverhältnisse der Infektion der vielen Eier alleine gerecht werden können. Welche weitere Möglichkeit sich dazu bietet, werden wir gleich erfahren.

Zunächst soll uns noch kurz das weitere Schicksal der wiederbesiedelten Mycetome interessieren. Was ihr Aussehen betrifft, so ist das Syncytialplasma meist von größeren und kleineren Vakuolen durchsetzt. Der Umfang des größtenteils polymorphen, pyknotischen Kernmaterials steht vielfach in keinem Verhältnis zu dem geringen Plasmaanteil. Das hypertrophierte Hülleepithel umschließt entweder einen einheitlichen syncytialen Bezirk, oder Ausläufer desselben trennen den Syncytien entsprechende kleine Plasmaportionen. Dieses degenerative Bild wird noch durch die obengenannten anormalen Symbiontenformen unterstrichen. Nur langsam macht sich eine schrittweise Normalisierung bemerkbar. Während die Besiedlungsdichte mit jeder Generation zunimmt, werden die atypischen Bakterienelemente mehr und mehr durch normale Verbände ersetzt. Parallel dazu verläuft die Wiederherstellung der regulären Mycetomstruktur und die Gesundung des Kernmaterials. Dieser Vorgang dauert unterschiedlich lang, kann aber nach etwa 5 Generationen abgeschlossen sein.

Wie ist es nun aber möglich, daß diese Symbionten eine gewisse Zeit lang latent bleiben können, um dann plötzlich wieder im Mycetom aufzu-

tauchen? Eine perorale Reinfektion scheidet schon nach der Art der symbiontischen Einrichtungen aus. Für dieses rätselhafte Verhalten bleibt somit nur mehr eine Erklärung: Bei 38° C degeneriert bei einem Teil der Versuchstiere der gesamte Symbiontenbestand der Mycetome. Demnach müßten diese Individuen laufend symbiontenfreie Nachkommen zeugen. Da dies aber nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, daß ein Teil der Symbionten sich bei 38° C zu thermoresistenten Formen entwickelt, im Laufe dieses Vorgangs wohl das Mycetom verläßt und in den Organismus ausschwärmt. Wenn sich vielleicht in den verödeten Mycetomen der Wärmetiere bisweilen auch noch kleine Reste der zerfallenen Symbiontenverbände aufhalten, die mikroskopisch nicht mehr als solche zu erkennen sind, so besteht dennoch Anlaß, auf die vielfach freie Lebensweise der hitzeresistenten Mikroorganismen zu schließen; wären doch Tiere mit Mycetomverhältnissen, welche denen der Abb. 8a entsprechen, sonst nicht in der Lage, symbiontisches Erbgut weiterzugeben. Nirgends stieß ich aber im Organismus auf lokale Ansammlungen solcher künstlich hervorgerufener Migrationsstadien. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um kleine kokkoide Keime, die, im Fettkörper u. dgl. verstreut, nie mit Bestimmtheit anzusprechen sind, da die große Gefahr besteht, sie mit den unvermeidlichen Fixierungsartefakten zu verwechseln. Nur wenn es gelänge, selektive Färbemethoden für diesen Symbiontenstamm zu entwickeln, könnten wir tieferen Einblick in diese Vorgänge gewinnen. Für den Verdacht, es handle sich bei den thermoresistenten Symbiontenformen um Sporen, ließ sich kein Beweis erbringen; die Sporenfärbungen (nach KLEIN u. RAKETTE) verliefen ergebnislos.

Die Preisgabe des Mycetoms während des Hitzeeinflusses müssen wir wohl so verstehen, daß mit den tiefgreifenden morphologischen Umwandlungen der Symbionten sicherlich auch eine Änderung ihrer physiologischen Potenzen verbunden ist. Zudem sind in den Mycetomen, die durch den degenerierenden Symbiontenanteil stark in Mitleidenschaft gezogen sind, die Voraussetzungen für ein geregeltes Stoffwechselgeschehen genommen (s. Abb. 2a—3a). Infolge der durch diese beiden Momente entstehenden Disharmonie zwischen Mycetom einerseits und Symbionten andererseits werden wohl auch letztere veranlaßt, ihren festen Sitz vorzeitig aufzugeben. Im Normalfall geschieht dies erst mit der Ausbildung der Infektionsformen. Gleich diesen flottieren also die hitzestabilen Wanderformen frei im Körper des Wirts, ohne virulent zu werden. Abgesehen davon, würde ein solches Verhalten auch der symbiontischen Natur dieser Mikroorganismen widersprechen. Immerhin müssen sie sich zur Aufrechterhaltung des symbiontischen Zyklus bis zu einem gewissen Grade vermehren. Der Ovarialinfektion steht durch die freie Lebensweise erst recht nichts im Wege.

Unwillkürlich fragt man sich, warum die embryonalen Mycetocyten nicht immer von den hitzeresistenten Mikroorganismen besiedelt werden?

Doch dafür gibt es plausible Gründe: Durch die nachhaltigen Veränderungen der Symbionten in Hitze wäre es gut möglich, daß die während der Embryonalentwicklung bis in alle Einzelheiten festgelegte Wanderung und definitive Gruppierung der Symbionten (BUCHNER 1954) gestört wird. Außerdem könnten bei dem augenblicklichen Zustand der Bakterien die für die Einwanderung in die embryonalen Mycetocyten vermutlich maßgebenden chemotaktischen Vorgänge wirkungslos bleiben. Ist schon bei Tieren mit gesunder Besiedlung einem mehr oder minder großen Rest von Symbionten die Ansiedlung in den Mycetocyten nicht möglich, so ist das im vorliegenden Fall gar nicht mehr so verwunderlich. Überhaupt wäre es nach diesen Erfahrungen sogar möglich, daß auch in normal besiedelten Tieren die zurückbleibenden Bakterien nicht nur in die akzessorischen Zellen eindringen, sondern zum Teil eine freie Lebensweise führen. Vielleicht entgehen gerade diese bevorzugt der Degeneration? Leider können wir darüber vorerst nur Vermutungen anstellen. Das Wissen um die Eigentümlichkeiten dieser Lebensgemeinschaft einerseits und die Ergebnisse aus den experimentellen Untersuchungen andererseits vermögen diese jedoch weitgehend zu stützen.

Auch die Art der Wiederbesiedlung der Mycetome trägt dem geschilderten Verhalten der thermoresistenten Symbionten Rechnung. Man hat vielfach den Eindruck, als wären die ersten Eindringlinge mehr durch Zufall in die Mycetocyten gelangt als durch gerichtete Bewegung. So waren einmal die Mycetome frei, die akzessorischen Zellen aber an einer Stelle besiedelt. Andere Mycetome wiederum enthielten nur einen Bakterienverband ähnlich der Abb. 6c, oder einen kleinen Haufen kondensierter Bakterienelemente. Auch im Hüllgewebe wachsen Symbionten bisweilen zu größeren Verbänden aus. Gerade diese Beobachtungen deuten auch auf das Vorliegen einer diffusen Infektion im Organismus hin.

Schneller erholen sich natürlich die Mycetome von Nachkommen der P-Tiere, welche bei 38° C nur eine mittlere oder starke Schädigung ihrer Bakterienorgane erlitten. In diesem Falle wird die Kontinuität der Mycetombesiedlung über alle Generationen hin gewahrt. Neben den bekannten Modifikationsformen ist diesmal meist schon in der F₁-Generation ein gewisser Anteil von normalen Verbänden vorhanden. Trotzdem weisen auch diese Mycetome degenerative Züge auf, die ebenfalls nur langsam abklingen.

Schließlich sollte noch durch eine Versuchsserie die enorme Wärmeresistenz der Symbionten des Getreidekapuziners veranschaulicht werden: Ausgehend von Tieren mit geringem Symbiontenbestand (= F₁-Generation von 38° C-Tieren) wurden laufende Entwicklungspassagen bei 38° C durchgeführt, in der Hoffnung, dadurch allmählich diese Symbiontenreste zum Absterben zu bringen. Kontrollen nach 5 Generationen ergaben jedoch, daß sich an der dünnen Besiedlung der Mycetome

nicht das geringste geändert hatte. Die Hartnäckigkeit, mit der diese Symbionten der Hitze zu trotzen vermögen, wird erst verständlich, wenn wir uns der Heimat ihres Wirtes erinnern. Durch ihre hochgradige Anpassung an die in den Tropen und Subtropen herrschenden Temperaturbedingungen wird also jeglicher Einfluß von hoher Temperatur auf alle Entwicklungsstadien ihrer Wirtstiere gefahrlos für den Fortbestand der symbiontischen Lebensgemeinschaft. Dies nimmt uns auch die Möglichkeit, das Nutzproblem auf diesem Wege einer Lösung näher zu bringen.

Die Anlage steriler Mycetome weist auf die erbliche Fixierung dieser Organe hin. Sie sind somit ein fester Bestandteil im Bauplan des Tieres, was zweifellos für ein hohes phylogenetisches Alter dieser Symbiose spricht.

VII. Temperaturversuche mit weiblichen Imagines

Da die Symbionten auf den einzelnen Entwicklungsstadien innerhalb des symbiontischen Zyklus unterschiedlich auf Umweltseinflüsse reagieren können, mußte bei den Versuchen, die Symbiose des Getreidekapuziners zu sprengen, das Verhalten der Symbionten reifer Weibchen bei hoher Temperatur einer besonderen Prüfung unterzogen werden. Bekanntlich wachsen bei *Oryzaephilus surinamensis* L. die Symbionten adulter Weibchen bei 36° C zu langen Schläuchen aus, die sich nicht mehr zur Ovarialinfektion eignen. KOCH (1936) erhielt so symbiontenarme oder symbiontenfreie F_1 -Tiere. Er sieht in den langen Schläuchen thermoresistente Entwicklungsstadien der *Oryzaephilus*-Symbionten, während er den runden bis ovalen Infektionsformen eine spezifische Thermosensibilität zuschreibt. Im Gegensatz dazu zeichnen sich die thermoresistenten Mikroorganismen von *Rhizopertha* mehr durch pleomorphe, mitunter sehr kleine Wuchsformen aus. Ob diese auch bei geschlechtsreifen Weibchen mit gesundem Symbiontenschatz ausgebildet werden, sollte folgendes Experiment beweisen:

Eine Population 15 Tage alter Imagines wurde von 30° C in 38° C gegeben (85—95 % rel. Hydr.!). In gewissen Zeitabständen wurden davon etliche Weibchen¹ fixiert und zugleich 10—15 Tiere in Einzel-tuben wieder in Normaltemperatur (30° C) gebracht. Von diesen

¹ Für diese und andere Untersuchungen war es notwendig, die Geschlechter zu erkennen. Da dies aber bei *Rhizopertha* an Hand irgendwelcher sekundärer Geschlechtsmerkmale nicht möglich ist, fand ich auf der Suche nach anderen Unterscheidungsmerkmalen schließlich durch Zufall eine relativ einfache Methode: Ein leichter Druck auf die Ventralseite des Abdomens der mit Äther schwach betäubten Tiere genügt, um beim Weibchen den Ovipositor austreten zu lassen. Beim Männchen stülpt sich der Endophallus mit der Virga und den beiden Titillatoren aus. Ohne Betäubung läßt sich dieser Effekt meist nur unter Verletzung der Tiere erreichen.

kamen dann nach 3 Wochen jeweils gesondert einige Exemplare mit Nachkommen zur Untersuchung. Auf diese Weise waren die Auswirkungen des Hitzeeinflusses in verschiedenen Richtungen gut zu übersehen.

Schon nach 14 Tagen machen sich auffallende Gestaltsveränderungen an den Symbionten bemerkbar. Viele der gedrungenen Infektionsformen und der weniger dicht vereinten Symbiontengröppchen sind zu Verbänden ausgewachsen, wie wir sie sonst bei älteren Larven antreffen. Ein Teil davon ist sogar noch größer und fällt außerdem durch die Reichhaltigkeit der Einzelkomponenten auf. Auch finden sich bei einigen Individuen alle Übergangsformen von diesen ansehnlichen Verbänden zu größeren Klumpen. Noch viel deutlicher treten diese Vorgänge bei den Tieren in Erscheinung, die erst nach 35 Tagen aus 38° C fixiert werden (Abb. 9). Die den Infektionsformen ähnlichen Symbiontentypen treten jetzt stark in den Hintergrund. Waren bisher die Bakterienverbände in Wachstum begriffen, so beginnen sie nun teilweise wieder zu zerfallen. In den Zentren einiger Syncytien ist der jetzt immer stärker hervortretende Degenerationsprozeß schon sehr weit vorgeschritten.

Für das Studium dieser Vorgänge eignen sich ganz besonders die in den Mycetomen verstreuten Degenerationsinseln, welche sehr ausdrucksvoll Zeugnis von den umwälzenden Veränderungen in den symbiontischen Organen ablegen. Auf Abb. 9 lenkt ein großer, chromatinreicher, extrem pyknotischer Kern sogleich die Aufmerksamkeit auf einen derartigen Degenerationsbezirk: Die Zahl der Kerne hat sich vermehrt. Sie liegen dicht beisammen und haben auch an Volumen mehr oder weniger stark zugenommen. Kugelige Riesenverbände mit vielen Einzelgliedern (vgl. Abb. 6 c) vermehren im Verein mit kleinen verblaßten Bakteriengröppchen und „Rosetten“ die degenerativen Symptome dieses Mycetombereichs. In den weiten Lücken zwischen den einzelnen Syncytien erkennen wir die dort einsetzenden lytischen Prozesse. Auch die Randgebiete des Mycetoms werden nach den dort auftretenden großen Involutionsformen (vgl. Abb. 6 e) von der Degeneration bevorzugt erfaßt. Helle Höfe umgeben diese verklumpten Symbiontenballen. An ihrer Ausdehnung läßt sich die Größe der Riesenverbände, aus denen sie hervorgingen, gut rekonstruieren. Sonst sind im ganzen Mycetom zwischen die noch gut färbbaren Verbände verblaßte Symbiontengruppen oder einzelne Glieder eingestreut.

Abb. 9 a führt uns im Ablauf des Degenerationsprozesses einen Schritt weiter: In den hochgradig pyknotischen Kernen, deren Zahl und Größe ganz beträchtlich zugenommen hat, spiegelt sich die schwere Schädigung des Mycetoms wider. Vereinzelt geht ihre Vermehrung sogar so weit, daß sie nahezu das gesamte Volumen eines Syncytiums

einnehmen. In mehreren Degenerationsinseln sind die Symbionten schon restlos verschwunden. Wahrscheinlich handelt es sich bei ihrem homogenen Inhalt um Schleim, zumal ja die Degeneration dieser Bakterien immer mit der Ausbildung einer Schleimhülle verbunden ist. Das zeigt sich auch wieder auf dieser Abbildung in den lichten Höfen, welche die Symbiontenverbände umgeben. Nicht alle Syncytien weisen dieses Aussehen auf, wie gleichfalls der Stand der Degeneration in den einzelnen Mycetombezirken verschieden ist.

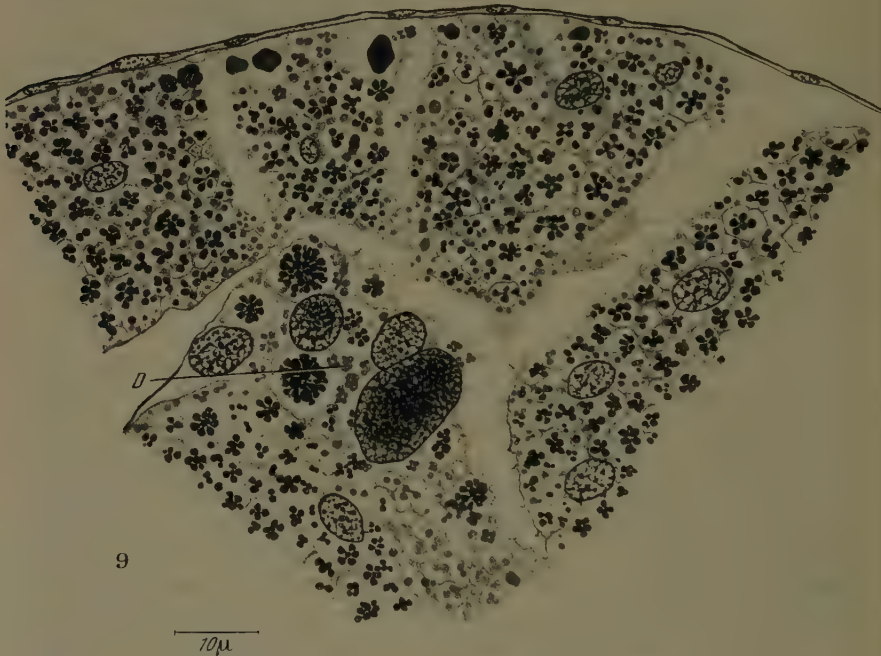


Abb. 9

Nach 47 Tagen Hitzebehandlung hat der Verfall der symbiontischen Organe weiter zugenommen. Ihre Besiedlung besteht jetzt nur mehr aus Symbiontenklumpen und mehr oder minder verblaßten Verbandsfragmenten. Ein Teil der Kerne verfällt schon der Auflösung.

Die Nachkommen solcher Weibchen besitzen, obwohl bei Normaltemperatur aufgezogen, kleine Mycetome mit einem dicken Hüllsyncytium. Insgesamt weisen sie degenerative Züge auf, was besagt, daß ein morbides Erbgut an Symbionten weitergegeben wurde.

Zu welch exzessiven Umgestaltungen die destruktiven Vorgänge in den Bakterienorganen nach 71 Tagen Hitzeeinfluß führen zeigt Abb. 9b. Am meisten überraschen die amöboid verzweigten Riesenkerne, welche

fast in ihrer gesamten Länge das Syncytium nach allen Richtungen durchziehen. Der feinkörnige Kerninhalt ist stellenweise wolkig verdichtet. An einigen Stellen sind die Kerne geplatzt; ihr dort schwächer färbbarer Inhalt tritt ins Plasma über und wird eingeschmolzen. Um das verödete Zentrum des Syncytiums schart sich noch eine beachtliche Menge morphologisch veränderter Symbionten. Bei den Kokkengruppchen könnte man vielfach

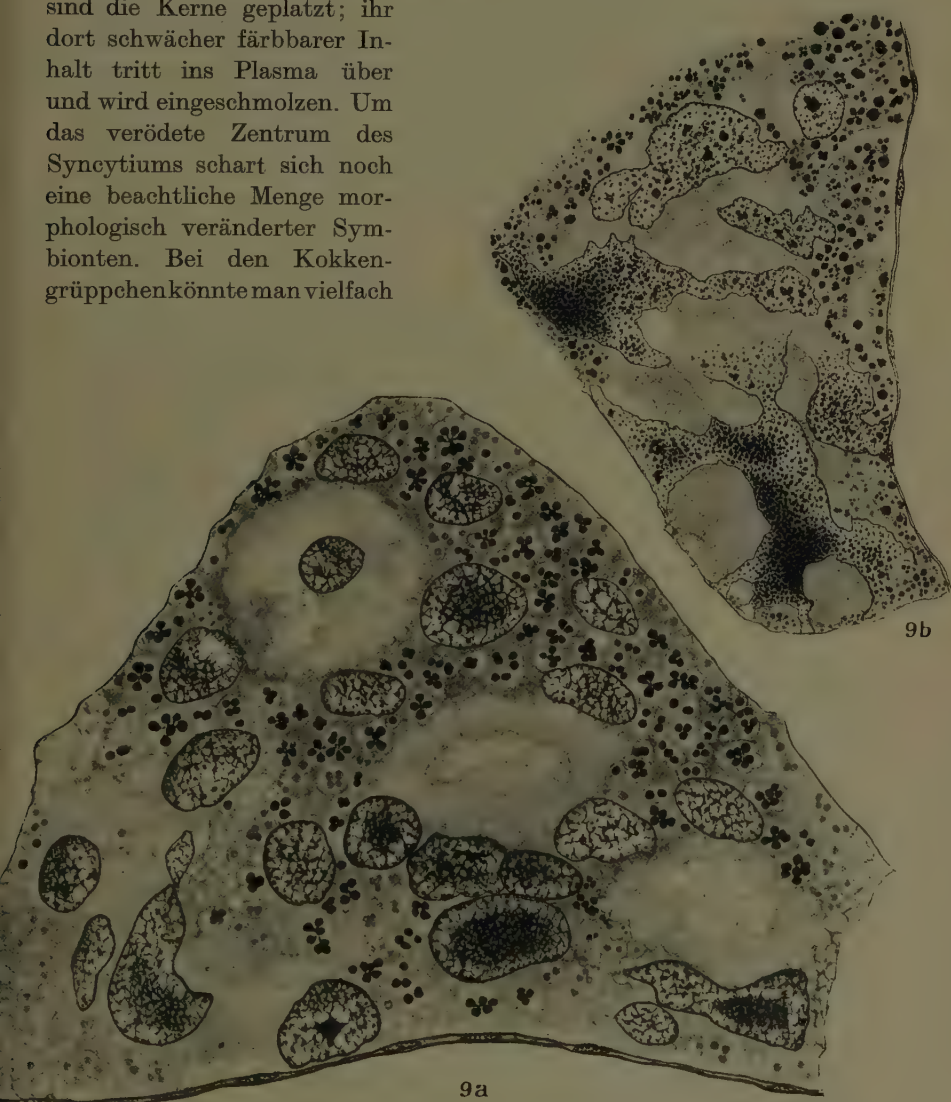


Abb. 9—9b. Die Degeneration der Mycetome weiblicher Imagines bei 38° C. Abb. 9 Mycetomausschnitt; der größte Teil der gedrunghenen Infektionsformen ist nach 35 Tagen in Verbände ausgewachsen; *D* typische Degenerationsinsel. Abb. 9a Einzelnes Syncytium im fortgeschrittenen Stadium der Degeneration; starke Anreicherung des Kernmaterials! Abb. 9b Extrem degeneriertes Syncytium nach 71tägiger Hitzebehandlung mit völlig abnormen Kernformen

glauben, es handle sich um reguläre Infektionsstadien. In Wirklichkeit sind es aber Zerfallsformen, Kondensations- und Modifikationsprodukte der während der Wärmeeinwirkung entstandenen Verbände. Nachdem uns die Ausbildung thermoresistenter Formen dieses Symbiontenstammes bekannt ist, gehen wir nicht fehl, in ihnen ebenfalls wärmefeste Stadien zu erblicken. Dafür spricht nicht nur ihre morphologische Ähnlichkeit mit den bereits früher beschriebenen Symbiontentypen, sondern auch ihre Fähigkeit, in allen folgenden sich bei 38° C entwickelnden Generationen am Leben zu bleiben. Somit sind alle Entwicklungsstadien im Zyklus der *Rhizopertha*-Symbionten in der Lage, thermoresistente Formen auszubilden.

VIII. Versuche bei niederen Temperaturen

Nachdem es mit hohen Temperaturen lediglich möglich war, den Symbiontenbestand von *Rhizopertha* auf ein thermoresistentes Minimum zu dezimieren, war es naheliegend, ihr Verhalten bei niederen Temperaturen zu untersuchen, könnten doch gerade diese an Wärme so gut angepassten Mikroorganismen besonders empfindlich auf Kälteeinflüsse reagieren. Dazu war es notwendig, eine möglichst niedrige Temperaturstufe zu ermitteln, welche die Tiere noch über längere Zeit hin ertragen können. Eine Versuchsreihe ergab, daß +4° C dieser Anforderung entspricht. Allerdings durften als Versuchstiere nur junge, noch im Vollbesitz ihrer Reserven befindliche Imagines verwendet werden. Nur so war es z. B. möglich, von 66 in den Kälteschrank gegebenen Käfern nach 42 Tagen noch 6 lebend vorzufinden.

Um die Auswirkungen des Kälteeinflusses auf die Symbionten studieren zu können, fixierte ich in verschiedenen Zeitabständen einige Weibchen direkt nach der Entnahme aus dem Eisschrank (+4° C). Als nach 40 Tagen nur mehr wenig Tiere am Leben waren, wurde dieser Rest in Normaltemperatur (30° C) zurückgegeben und zur Weiterzucht verwendet.

Nach 10 Tagen Kälteaufenthalt zeigen sich an den Mycetomen der Weibchen noch keine sichtlichen Veränderungen. Erst von jetzt ab macht sich bei den gedrungenen Symbiontengröppchen die Tendenz der Verbandsbildung bemerkbar. Die gleiche Erscheinung konnten wir bei hoher Temperatur beobachten, nur mit dem Unterschied, daß die sich dort sehr rasch abwickelnden Vermehrungsvorgänge unter dem Einfluß von Kälte nur langsam vor sich gehen. Dadurch wird die Teilung der Symbionten in ihren Einzelphasen sichtbar, ein Vorgang, von dem man sich bisher nur eine auf die strukturelle Beschaffenheit der Verbände begründete Vorstellung machen konnte. Hier aber ist deutlich zu sehen, wie sich die Einzelkomponenten eines Verbandes zu teilen beginnen,

allmählich himbeerförmige Gestalt annehmen (Abb. 10) und sich dann ablösen. Schon nach etwa 15 Tagen sind diese Teilungsstadien verhältnismäßig gut ausgebildet. Neben einfachen Kokkenketten oder Ketten von traubigen Einzelgliedern finden sie sich aber auch noch in den Mycetomen von Weibchen, welche nach 38 Tagen der Kälte entnommen werden. Auch verklumpte Symbionten mischen sich vereinzelt oder zu Nestern vereint zu diesem Zeitpunkt dazwischen. Offenbar degeneriert schon jetzt ein Teil der Mycetominsassen. Trotzdem ist die Vermehrung noch so stark, daß sich nirgends ein Rückgang in der Besiedlungsdichte einstellt; im Gegenteil, es sind Mycetome dabei, die auffallend prall mit gut färbbaren Symbionten gefüllt sind. Andere wiederum sind ebenfalls dicht besiedelt, aber das Tinktionsvermögen ihrer pflanzlichen Insassen hat merklich nachgelassen. Dies ist ein weiterer Hinweis auf eine teilweise schon jetzt spürbar werdende Schädigung der Mikroorganismen durch Kälte.

Leider kann über das weitere Verhalten der Symbionten bei $+4^{\circ}\text{C}$ nichts ausgesagt werden, da die wenigen nach 40tägigem Kälteaufenthalt noch lebenden Käfer schnell sterben. Dafür läßt sich aber das Geschehen in den Mycetomen der nach dieser Zeit wieder auf Normaltemperatur (30°C) zurückgesetzten Tiere verfolgen. Wider Erwarten zeigen diese selbst nach 50 Tagen noch die Spuren der Kälteeinwirkung: Morphologisch sehr unterschiedlich geartete Symbiontentypen mit geringer Färbbarkeit. Dieser Zustand wirkt sich fast durchwegs auch auf das Aussehen der symbiontischen Organe junger Larven der F_1 -Generation aus. Teilweise sind sie klein und bergen schwach oder verschieden färbare Bakterien, teils besitzen sie bei üblicher Größe Störungen an Kernen und Symbionten. Andere dagegen sind vollkommen normal. Bei allen geschädigten Organen verschwinden jedoch meist schon bis gegen Ende der Metamorphose die krankhaften Symptome wieder. Wir werden noch sehen, daß sich die Symbionten von *Oryzaephilus* in dieser Hinsicht ganz anders verhalten.

Auch der Versuch einer sich über mehrere Generationen hinziehenden „fraktionierten“ Elimination der Symbionten ist zum Scheitern verurteilt, da notgedrungen die Entwicklung der Tiere bei 30°C erfolgen muß, wodurch sich jeweils der Zustand der Bakterien weitgehend normalisiert. Der Grad ihrer Schädigung, der während 35–40 Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ erreicht wird, ist also nicht durchgreifend genug, um bei der nächsten, bei 30°C heranwachsenden Generation nicht wieder behoben zu werden.



Abb. 10. Himbeerförmige Vermehrungsstadien der Symbionten aus den Mycetomen einer Puppe, die 19 Tage im Eisschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ lebte

Larven, die teils bis zu 50 Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ am Leben bleiben, werden in der gleichen Art und Weise beeinflußt wie die Imagines. Sie vermögen ebenfalls die in den Mycetomen vorhandenen Kältedefekte bei normaler Temperatur wieder zu kompensieren, wenn auch degenerative Bezirke mit Nestern von Bakterienklumpen und kleinen Vakuolen teilweise erhalten bleiben.

In weiteren Versuchen wurde die Kältebehandlung während des Individualzyklus mehrmals wiederholt, um die Mycetome einer möglichst langen Kälteeinwirkung auszusetzen. Zu diesem Zwecke wurden alte Larven 40—45 Tage der Kälte ausgesetzt; die Verpuppung erfolgte dann bei Normaltemperatur. Unmittelbar darauf wurden die Puppen 20—30 Tage lang in den Eisschrank gebracht und dann zur Vollendung der Metamorphose der Temperatur von 30°C übergeben. Zum dritten Male kamen nun die Tiere als Imagines in Kälte. Durch regelmäßige Kontrollen konnten sie vor dem Absterben wieder in normale Temperatur überführt werden. Die dadurch physisch stark geschwächten Käfer schritten nur langsam zur Vermehrung und zeugten außerordentlich hinfällige Nachkommen, welche eine ähnliche Kältebehandlung nicht überlebten. Aber auch diesmal stellten die sichtlich geschädigten Mycetome der Kältetiere noch in ausreichender Menge Infektionsformen der Symbionten für die Nachkommen zur Verfügung.

Bei Larven und Puppen, welche der Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ ausgesetzt werden, tritt bei einem Minimum an Stoffwechselgeschehen ein augenblicklicher Stillstand in der Entwicklung ein. Besonders gut läßt sich dies an jungen männlichen Puppen verfolgen. Bei 30°C ist am Ende der 5—6tägigen Puppenruhe die Spermatohistogenese in vollem Gange. Werden aber junge Puppen in $+4^{\circ}\text{C}$ gegeben, so sind deren weniger weit entwickelte Gonaden selbst nach 40 Tagen noch auf dem gleichen Entwicklungsstadium. Von dieser den ganzen Organismus erfassenden Lethargie werden die symbiontischen Organe nicht so sehr betroffen. Bedauerlicherweise schreiten aber dort die durch die Kälte eingeleiteten Prozesse (bei $+4^{\circ}\text{C}$) nur sehr langsam voran, so daß über deren Charakter wenig ausgesagt werden kann. Das gab mir auch Anlaß, weitere Versuche mit Puppen bei $+10^{\circ}\text{C}$ durchzuführen, wo eine Beschleunigung der Vorgänge in den Mycetomen zu erwarten war, gleichzeitig aber die Entwicklung der Tiere noch vollkommen sistierte. Die daraus gewonnenen Ergebnisse stellen eine interessante Ergänzung der $+4^{\circ}\text{C}$ -Versuchsserie dar:

Ebenso wie bei $+4^{\circ}\text{C}$ geht die Vermehrung der Symbionten bei $+10^{\circ}\text{C}$ weiter vor sich. Wiederum treten die bekannten himbeerförmigen Stadien (Abb. 10) auf. Was jedoch im Hinblick auf die jetzt höhere Versuchstemperatur überrascht, ist die Erscheinung, daß sich mit der Vermehrung der Symbionten früher als bei $+4^{\circ}\text{C}$ degenerative

Prozesse einstellen, die im Vergleich zu $+4^{\circ}\text{C}$ auch rascher um sich greifen. Dadurch zeigen die Mycetome von Puppen, welche nach 40 Tagen aus 10°C entnommen und fixiert werden, beachtliche Schäden, die in vielem den Verfallserscheinungen bei Hitze ähnlich sind.

Unter welchen Gesichtspunkten müssen wir nun das Verhalten dieser pflanzlichen Einmieter bei niedrigen Temperaturen sehen? Wie sind vor allem die Vermehrungsvorgänge zu erklären, die bei $+10^{\circ}\text{C}$ erstaunlicherweise schneller abklingen als bei $+4^{\circ}\text{C}$, um Degenerationsprozessen Platz zu machen? Daß hier nicht nur der nachteilige Einfluß der Kälte im Spiele steht, ist offensichtlich. Es kommt noch ein anderer Faktor hinzu, der in den speziellen Verhältnissen zu suchen ist, die sich bei $+4^{\circ}\text{C}$ bzw. $+10^{\circ}\text{C}$ für Mycetom und Gesamtorganismus ergeben: In Normaltemperatur spielt sich ein ständiger Stoffaustausch zwischen Mycetom und Wirtsorganismus ab. Wenn nun durch Kälte alle Prozesse im Körper stark abgebremst sind — die völlige Entwicklungsruhe bei Larven und Puppen beweist dies — wird auch der Stoffaustausch empfindlich gestört. Unwillkürlich führt dies zu einer sich vorerst noch positiv auswirkenden Vermehrung der von den Mikroorganismen produzierten Stoffe im Mycetom. Darin liegen wohl auch die nach kurzem Kälteeinfluß einsetzenden Vermehrungsimpulse der Symbionten begründet. Durch die bekanntlich ungesteuerten Fermentationsvorgänge der Mikroorganismen — das Prinzip der Ammenkulturen im Celloverfahren beruht auf dieser Tatsache — kommt es bald zu einer starken Anreicherung der symbiontischen Wuchsstoffe im Mycetom. Nachdem aber die Existenz dieser intrazellulären „Bakterienkulturen“ von einem ständigen Austausch der von beiden Partnern des symbiontischen Systems gebotenen Stoffe abhängig ist, werden sowohl durch das Überangebot an körpereigenen Wuchsstoffen als auch durch den mangelnden Nachschub an lebenswichtigen Substanzen die Lebensbedingungen im Mycetom schnell verschlechtert. Dies ist sicherlich auch ein Grund dafür, daß nach der anfänglichen Vermehrungstätigkeit der Symbionten eine Hemmungs- und Degenerationsphase einsetzt. Wäre letztere allein durch Kälte ausgelöst, müßten die Symbionten bei $+4^{\circ}\text{C}$ mehr geschädigt werden als bei $+10^{\circ}\text{C}$.

Diese durch die Störung des Stoffaustausches vermutlich mitbestimmte Degeneration der Symbionten von *Rhizopertha* bei Kälte könnte sogar ein Schlüssel zum allgemeinen Verständnis der Regulation der Symbiontenvermehrung in den Mycetomen sein. Demnach wäre es denkbar, daß durch einen vom Wirt gesteuerten Stoffaustausch in den Mycetomen Verhältnisse geschaffen werden, bei denen sich die Vermehrung der Bakterien in normalen Grenzen bewegt. Daß wir darüber bis heute noch recht wenig wissen, liegt an den Schwierigkeiten, die sich einer solchen Analyse in den Weg stellen. Nur durch fortgesetzte

Beobachtungen bei experimentellen Arbeiten wird es gelingen, den Schleier, der noch über diesen geheimnisvollen Prozessen liegt, etwas zu lüften.

IX. Versuche mit den antibiotischen Wirkstoffen Aureomycin und Terramycin

Bei der experimentellen Untersuchung von Endosymbiosen lag es von vornherein nahe, sich auch bakteriostatischer und bakterizider Mittel zu bedienen, wie sie in der Praxis der Bakteriologie und Medizin verwendet werden. Schon frühzeitig suchten einige Forscher mit mehr oder minder durchgreifendem Erfolg diesen Weg zu beschreiten (CLEVELAND 1928, KOCH 1932). Es handelte sich dabei um die Applikation chemischer Agentien an die Symbiontenträger. Hand in Hand mit der Entwicklung und Erprobung dieser chemotherapeutischen Mittel lernte man die große Bedeutung der antibiotisch wirksamen Stoffe kennen, und es dauerte auch nicht allzu lange, bis diese selbst zum Gegenstand der experimentellen Symbioseforschung wurden. BRUES u. DUNN (1945) zählen zu den ersten, welche die Wirkung verschiedener Antibiotica auf die Symbionten von *Blaberus cranifer* erprobten.

Nachdem sich die Symbionten des Getreidekapuziners weder durch Hitze noch durch Kälte ausschalten ließen, sollte in weiteren Experimenten ihr Verhalten bei Stoffeinfluß geprüft werden. Da bei *Rhizopertha* zum ersten Male derartige Versuche unternommen wurden, also jegliche Anhaltspunkte bezüglich Dosis, Verträglichkeit und sonstige Auswirkungen fehlten, empfahl es sich, aus der Reihe der antibiotischen Wirkstoffe vorerst nur einige herauszugreifen, diese aber einer um so eingehenderen Analyse zu unterziehen. Die Wahl fiel dabei auf Aureomycin und Terramycin. Zuerst war es wichtig, eine Methode zu entwickeln, die es gestattet, den Tieren die Präparate in kontinuierlich konstanter Dosis zu applizieren, um einen bestimmten Wirkstoffspiegel im Organismus der Käfer aufrechtzuerhalten. Die Ernährungsweise des Getreidekapuziners als Körnerfresser ließ in der Wahl der Methode wenig Spielraum. Ein Durchtränken der Körner mit Lösungen der zu prüfenden Substanzen erschien mir als der sicherste und zugleich einfachste Weg. Injektionen in die Leibeshöhle mit Rekordspritzen wie sie bei größeren Objekten (Blattiden) vorgenommen wurden, kamen bei der geringen Größe der Versuchstiere überhaupt nicht in Frage.

Verwendet wurde Terramycinhydrochlorid (Chas. Pfizer & Co., New York) und Aureomycinhydrochlorid (Lederle Laboratories, New York¹) in fester Form. Es wurden jeweils 0,2%ige wäßrige² Lösungen angewendet, wobei es bei der schweren Löslichkeit von Aureomycin nötig

¹ Den beiden Firmen sei für die Überlassung der Präparate herzlichst gedankt.

² Die Angaben beziehen sich hier wie im folgenden auf das Gesamtgewicht einschließlich der indifferenten Zusätze.

war, 2 ml $\frac{1}{10}$ n HCl je 25 ml H_2O zuzufügen. Da ich die beiden Wirkstoffe unter den gleichen Versuchsbedingungen prüfen wollte — um ihre spezifischen Auswirkungen gegenseitig abwägen zu können —, gab ich auch bei der Terramycinlösung, obwohl nicht notwendig, das gleiche Quantum der $\frac{1}{10}$ n HCl zu. Quergespaltene Haferkörner eigneten sich am besten zur Durchtränkung. Ein Zeitraum von 24 Std genügte, um sie mit den Wirkstofflösungen vollends zu durchtränken. Hierbei auftretende Quellungen verschwinden im anschließenden Trocknungsprozeß (bei 30—40° C im Thermostaten) wieder.

Es wurden entweder Eier oder 6—8 Wochen alte Imagines zu den Wirkstoffkörnern gegeben. Sehr bald machten sich die ersten Anzeichen einer Wirkung des Terramycins bemerkbar, von dem zunächst nur die Rede sein soll. Erst nach 60 Tagen, der doppelten Zeit also, schlüpfen die ersten Imagines bei Normaltemperatur. Dies konnte jedoch nur begünstigend für die erwünschten Auswirkungen des Antibiotikums auf die Symbionten sein. Zudem war eine gewisse Mortalität der Larven zu verzeichnen. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusammengestellt: Die Mycetome einiger 29 Tage alter Larven (2. und 3. Häutungsstadium) zeigten schon deutliche Spuren einer Schädigung; sie waren kleiner und nur mit verblaßten Verbänden besiedelt (Tabelle 4, Nr. 1). Ihre Degeneration machte bis zum Abschluß der Metamorphose der Wirtstiere weitere Fortschritte (Tabelle 4, Nr. 2). Niemals aber waren sie nach 63 Tagen steril, wie das bei *Calandra* unter gleichen Versuchsbedingungen der Fall ist (SCHNEIDER 1956). An Größe hatten sie beträchtlich eingebüßt; ihr Aussehen und der Grad ihrer Schädigung waren sehr verschieden. Häufig traten lytische Prozesse wieder an den Grenzen der Syncytien auf (Vakuolisierung), aber auch vollkommen kompakte Mycetome wurden beobachtet. Besonders an der stark vermehrten Kernzahl und dem Auftreten pyknotischer Kerne ließ sich deutlich die Auswirkung der terramycinhaltigen Nahrung erkennen. Dabei wurden manchmal auch die Kerne der „akzessorischen Zellmasse“ in ganz ähnlicher Weise beeinflusst (Abb. 11 a). Nur ihre kleinen Kernelemente blieben normal; dadurch trat die Doppelnatur des akzessorischen Zellmaterials gut hervor. Bei den unveränderten kleinen Zellen handelt es sich zweifellos um Bestandteile des ehemaligen Hüllgewebes, welche in die Tiefe verlagert wurden. Neben diesen Kernveränderungen verdienen noch fladenförmige, pyknotische Riesenkerne der Erwähnung.

Besonders interessant ist das Verhalten der symbiontischen Mikroorganismen selbst. Die verblaßten Bakterien, wie wir sie vorhin schon für die Larven erwähnten (s. Tabelle 4, Nr. 1), finden sich auch noch in ansehnlichem Umfange bei frisch geschlüpfen Imagines, wenn sie sich auch bei einigen Individuen teilweise in Lyse befinden. Meist bilden sie nur mehr verdichtete homogene Grüppchen (Abb. 11 a). Daneben existieren im Mycetom aber auch noch gut färbbare Verbände, welche zum

Teil riesige Ausmaße annehmen; weiterhin kommen noch alle möglichen Modifikationen der Symbionten vor. Überhaupt erinnern alle diese Anomalien sehr an die durch thermische Einflüsse bedingten Veränderungen in den symbiontischen Organen. Die bei den 3 Imagines der ersten auf Terramycinkörnern gezüchteten Generation (Tabelle 4, Nr. 2) vorgefundene Mycetomdegeneration mittleren Grades mahnt sehr zur Vor-

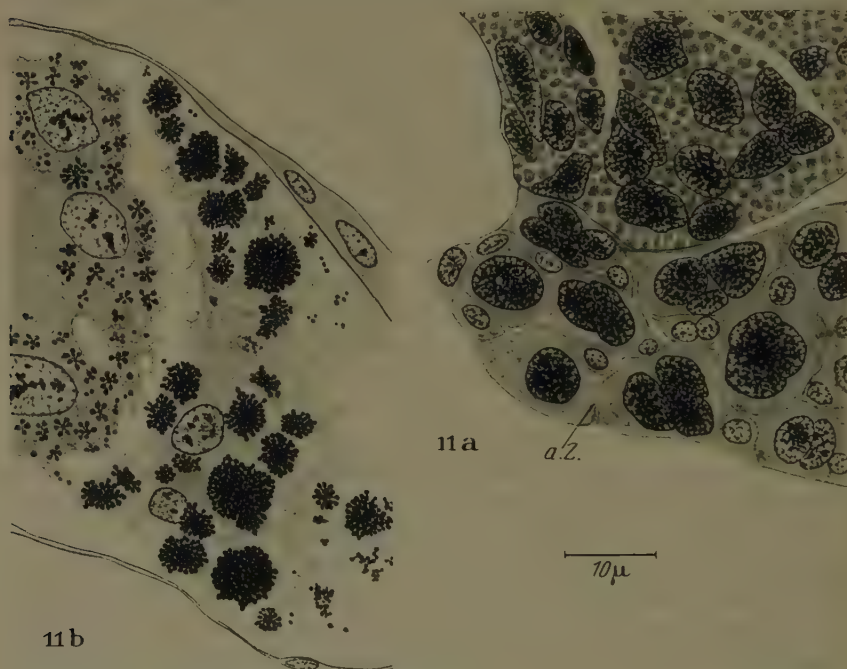


Abb. 11a u. b. a Teil des Mycetoms einer Imago, die sich auf terramycinhaltigem Futter entwickelte; a. Z. akzessorische Zellen. b Teile zweier Syncytien aus dem Mycetom einer sich auf Milokorn entwickelnden Puppe, welche von terramycinbehandelten P-Tieren abstammt

sicht, dem Terramycin eine allgemein bakterizide Wirkung auf die Symbionten von *Rhizopertha* zuzuschreiben. Auch der Fortgang des Symbiontenabbaus bei Tieren, welche insgesamt 104 Tage von terramycinhaltigem Futter lebten (Tabelle 4, Nr. 3), berechtigt, wie wir anschließend sehen werden, nicht zu dieser Auffassung. Das überrascht um so mehr, als bei einem Exemplar bei normaler Mycetomstruktur fast alle Symbionten bis auf geringe Reste zerstört und resorbiert waren.

Obleich zu erwarten war, daß zumindest die Nachkommen jener Elterntiere mit fast sterilen Mycetomen symbiontenfrei sind, hatten alle Individuen der zweiten, im gleichen antibiotischen Medium aufgewachsenen Generation noch einen kümmerlichen Symbiontenbestand,

Tabelle 4

Art der untersuchten Tiere	Abstammung	Zahl	Art und Dosis des Antibiotikums	Zeitdauer des Aufenthalts in Tagen		Grad der Symbiontenelimination in den Mycetomen				
				im antibiotischen Medium	in Mfio	1	2	3	4	5
Larven	von Normaltieren	3	Terramycin 50 mg/25 ml H ₂ O	29	—	—	3	—	—	—
frisch geschlüpfte Imagines	desgl.	7	desgl.	63 ⁶	—	—	3	4	—	—
♀♀	„	2	„	104 ⁷	—	—	—	1	1	—
Puppen	F ₁ von Nr. 3	2	unbehandelt	—	ganze Entw.-zeit	—	1	1	—	—
♀♀, = 2. Generation auf Terramycin	F ₁ von Nr. 3	4	Terramycin 50 mg/25 ml H ₂ O	70 ⁷	—	—	—	1	3	—
♀♀, = 3. Generation auf Terramycin	F ₂ von Nr. 3	3	desgl.	63 ⁶	—	—	—	—	3	—
♀♀	F ₃ von Nr. 3	4	Aureomycin 100 mg/25 ml H ₂ O	63 ⁶	—	—	—	1	3	—
♀♀	F ₄ von Nr. 3	6	Aureomycin 100 mg/25 ml H ₂ O	63 ⁶	—	—	—	1	5	—
Larven	F ₅ von Nr. 3	4	50 mg Aureomycin + 50 mg Terramycin je 25 ml H ₂ O	28	—	—	—	—	4	—

¹ Normal. ² Degeneration mittleren Grades. ³ Starke Degeneration. ⁴ Nur noch einzelne Restbakterien. ⁵ Steril. ⁶ Gesamte Entwicklungszeit vom Ei bis zur Imago. ⁷ Einschließlich Entwicklungszeit.

der jenem der P-Generation ähnlich war (Tabelle 4, Nr. 5). Die Mycetome waren jetzt verschwindend klein und es bereitete oft große Schwierigkeit, sie aufzufinden. Doch damit schien bei gleicher Behandlung der folgenden Generation die endgültige Elimination dieser letzten Symbiontenreste so gut wie sicher; war doch anzunehmen, daß die geringe Zahl der in ihrer Vermehrung sichtlich gehemmten Symbionten nicht mehr für die Zwecke der Übertragung genügen konnte. Als aber die F₂-Tiere trotzdem wieder die gleiche sporadische Besiedlung der Mycetome aufwiesen (Tabelle 4, Nr. 6), war es offensichtlich, daß sich ein terramycinresistenter Symbiontenstamm herausgebildet hatte. Den letzten Beweis dafür erbrachten alle weiteren auf Terramycinkörnern gezüchteten Generationen, wo stets dieselben Besiedlungsverhältnisse wiederkehrten.

Die Erfahrungen der Bakteriologie und der Therapie zeigten, daß streptomycin- oder penicillinresistente Mikroorganismen des öfteren noch auf Aureomycin ansprechen. Ich versuchte daher auch bei den terramycinresistenten *Rhizopertha*-Symbionten eine Nachbehandlung mit Aureomycin¹, die aber selbst über mehrere Generationen hin erfolglos war (Tabelle 4, Nr. 7 und 8). Sehr auffällig war jedoch dabei die morphologische Umgestaltung der in den äußerst kleinen Mycetomen (teils nur $50 \times 35 \mu$) befindlichen Symbionten. Bakterienkonglomerate verschiedenster Gestalt, bisweilen sogar bizarr geformt, mit relativ mächtigen Einzelgliedern, waren meist bezeichnende Auswirkungen der Aureomycinapplikation. Auch eine kombinierte Gabe von Aureomycin und Terramycin konnte die resistenten Symbionten nicht abtöten (Tabelle 4, Nr. 9).

Wichtig war nun zu klären, wie sich letztere bei normaler Kost der Wirtstiere verhalten. Dazu wurden Tiere mit resistenten Symbionten auf Milo (*Sorghum spec.*) gegeben. Die Mycetome ihrer Nachkommen nahmen zwar an Volumen zu, waren aber fast durchwegs degeneriert (Tabelle 4, Nr. 4). Die Symbionten entwickelten sich in den einzelnen Syncytien sehr unterschiedlich. Abb. 11 b zeigt einen Ausschnitt aus dem Mycetom einer in Milo herangewachsenen Puppe. Eine weit klaffende Lücke trennt die beiden nur teilweise dargestellten Syncytien. Ihre funktionelle Eigenständigkeit zeigt sich hier wieder sehr deutlich: Während das eine vollkommen normale Symbionten birgt, finden sich im anderen dagegen Riesenverbände von einem Ausmaß, wie ich sie bisher noch nie beobachten konnte. Zweifellos handelt es sich bei diesem Riesenwachstum der Bakterienverbände um eine Nachwirkung der Terramycinbehandlung. Gleichzeitig kommt darin eine gewisse Regenerationsbereitschaft der Symbionten zum Ausdruck. Merkwürdig ist nur, daß ihr Verhalten in zwei benachbarten Syncytien so grundverschieden ist. Im allgemeinen erstreckt sich die Normalisierung des Symbiontenbestandes über mehrere Generationen.

In derselben Weise und mit der gleichen Dosis wurden auch Versuche mit Aureomycin durchgeführt, welche prinzipiell die gleichen Ergebnisse lieferten. Deshalb sei von ihrer Schilderung abgesehen.

Wenn sich auch keine wesentlichen Unterschiede in der Reaktion der Symbionten auf Terramycin und Aureomycin ergaben, so unterscheiden sich doch beide Stoffe recht merklich in ihrer Verträglichkeit. Während eine Aureomycindosis von 100 mg/25 ml H₂O keine oder nur geringe Entwicklungsverzögerung zur Folge hatte und die Tiere in solchen Diäten sogar sehr vital waren, wurde schon bei einer Terramycindosis von 50 mg/25 ml H₂O die Entwicklungszeit verdoppelt und verdreifacht.

¹ Wieder gelangten Spalthaferkörner, welche diesmal mit einer Lösung von 100 mg Aureomycin/25 ml H₂O präpariert waren, zur Verwendung.

Die Toxizität von Terramycin zeigt sich weiterhin durch eine beträchtliche Steigerung der Mortalität junger Larven.

Eine Menge von 50 mg/25 ml H₂O reicht bei beiden Wirkstoffen aus, um die Symbionten von *Calandra* (SCHNEIDER 1956) und von *Oryzaephilus* (eigene Untersuchungen 1956) zu eliminieren. Dennoch bestand die Gefahr einer Unterschwelligkeit dieser Lösungen für die Symbionten des Getreidekapuziners. Unter Umständen konnte dies auch der Grund für die Entstehung der antibiotikaresistenten Bakterienzustände sein. In weiteren Versuchen wurde daher die Wirkstoffkonzentration verdoppelt. Zu gleicher Zeit liefen auch Versuche mit kombinierten Gaben beider Antibiotika mit einer Dosierung von je 50 mg/25 ml H₂O. Doch auch diese Experimente änderten im Endeffekt nichts am oben dargelegten Verhalten der Symbionten bei Larven und Imagines.

Unmittelbar nach Vollendung der Metamorphose kommt es bei den Weibchen zur Ausbildung besonderer Infektionsformen der Symbionten, während die Mycetominsassen der Männchen degenerieren. Über den problematischen Auslösemechanismus zur Entstehung ersterer schreibt BUCHNER (1953, S. 620): „Aller Wahrscheinlichkeit nach ist es vielmehr in erster Linie das Bedürfnis nach Symbionten, deren physiologischer Zustand derart ist, daß sie als Ausgangsmaterial für die in den Tochtertieren zu begründenden neuen Kulturen geeignet sind, welches die Umwandlungen auslöst.“ Wichtig im Zusammenhang mit unseren Versuchen ist die sicherlich andersgeartete physiologische Struktur der Infektionsformen, welche schon in ihrer veränderten morphologischen Gestalt zum Ausdruck kommt. Dies veranlaßte mich, auch diesen speziellen Symbiontentypus einer Wirkstoffanalyse zu unterziehen. So wurden 6—8 Wochen alte Weibchen auf Haferkörner gesetzt, welche mit einer Lösung von 50 mg Aureomycin bzw. Terramycin je 25 ml H₂O vorpräpariert waren. In gewissen Zeitabständen wurden davon etliche Tiere untersucht. Die wichtigsten, für Terramycin zutreffenden Ergebnisse enthält Tabelle 5. Auch hier zeigte sich sehr bald eine Anfälligkeit der Symbionten, ähnlich wie bei den Larven, welche sich in auffällig degenerativen Prozessen kundtat: Anreicherung des Kernmaterials verbunden mit Karyopyknose, Fladen- und Riesenkerne, insuläre Degeneration der Syncytien, Riesenverbände, Verklumpungen und andere morphologische Varianten der Mikroorganismen gaben diesen Vorgängen beredten Ausdruck. Praktisch waren damit die bei Hitzebehandlung erhaltenen Veränderungen an den symbiontischen Organen reproduziert, wenn auch diesmal das induktive Moment nicht physikalischer, sondern rein chemischer Natur war. Sogar das von den Hitzeversuchen her bekannte Auswachsen der gedrunghenen Infektionsformen in Verbände war besonders zu Beginn des Wirkstoffeinflusses vielfach festzustellen. Letzten Endes blieb aber in den Mycetomen ein modifizierter Rest von Symbionten

zurück, der sich als wirkstoffresistent erwies. Damit waren auch diese Versuche mit Aureomycin und Terramycin auf dem gleichen Stadium wie die Entwicklungsversuche angelangt.

Tabelle 5

Nr.	Zahl der unter- suchten Weibchen	Zeitdauer des Aufent- haltes in Terra- mycin in Tagen	Terramycin- dosis	Mycetome				
				normal	mit De- gene- ration mittleren Grades	mit ex- tremen Degene- ration	mit nur einzelnen Rest- bakterien	ganz steril
1	3	25	50 mg je 25 ml H ₂ O	—	3	—	—	—
2	2	60	50 mg je 25 ml H ₂ O	—	—	2	—	—
3	3	101	50 mg je 25 ml H ₂ O	—	—	—	3	—
4	2 F ₁ -Puppen von Nr. 3 auf Milo entwickelt			—	—	—	2	—

Die auffällige Ähnlichkeit der degenerativen Vorgänge in den Mycetomen von Larven und Imagines bei Hitze- und Wirkstoffversuchen, verbunden mit den nicht uninteressanten morphologischen Parallelen zwischen den thermo- und wirkstoffresistenten Symbiontenstämmen, führte zu dem Verdacht, daß es sich nicht nur um eine spezifische Resistenz gegen den einen oder den anderen Faktor handelt. Diese Vermutung ließ sich nur durch entsprechende Versuche erhärten. Erwies sich der hitzebeständige Stamm gleichfalls resistent gegen Aureomycin und Terramycin und ebenso umgekehrt, so konnte das als Beweis genügen. Zu diesem Zwecke wurden Eier von Imagines, die sich als dritte Generation bei 38° C entwickelten, zu Aureomycin- bzw. Terramycinhaferkörnern gegeben, welche mit einer Lösung von je 100 mg Wirkstoff je 25 ml H₂O durchtränkt waren. Die Larven entwickelten sich den jeweiligen Umständen entsprechend. Nach der Imaginalhäutung wurden die Tiere untersucht. Es ergab sich, daß der Aufbau der Mycetome mit ihren wenigen symbiontischen Insassen tatsächlich derselbe geblieben war. Auch in den weiteren Generationen änderte sich bei gleicher Behandlung nichts an dem Befund. Umgekehrt waren auch die wirkstoffresistenten Symbionten nicht durch Temperaturerhöhung auf 38° C abzutöten. Dieses erstaunliche Einspielen auf die plötzlich sich ändernden und für normale Symbionten schädigend wirkenden Versuchsbedingungen kann nur in einer universellen Resistenz gegenüber thermischen und gewissen chemischen Einflüssen seine Erklärung finden.

Da die sporadische Besiedlung der Mycetome mit wirkstoffresistenten Symbionten auf keinen Fall zur Infektion der Eier ausreichen kann, müssen wir auch bei diesen — ähnlich wie bei den thermoresistenten Formen — eine freie Lebensweise im Organismus der Wirtstiere annehmen.

Es fragt sich schließlich, um welche Art von Wirkstoffresistenz es sich bei den pflanzlichen Einmietern von *Rhizopertha* handelt? Ist sie primär, d. h. angeboren oder artgebunden, oder wurde sie erst sekundär durch einen Anpassungsvorgang an den schädigenden Stoffeinfluß erworben? Nach dem geschilderten Verhalten der symbiontischen Mikroorganismen ist es gut möglich, daß sie primär aureomycin- und terramycinempfindlich reagieren und erst nach einiger Zeit eine morphologisch veränderte resistente Sonderform entwickeln. Sie würden somit erst sekundär resistent werden.

X. Die Degeneration der Mycetome männlicher Imagines

BUCHNER (1954) hat in seiner Studie über die symbiontischen Einrichtungen der Bostrychiden die natürliche Degeneration der Mycetome männlicher Imagines von *Rhizopertha dominica*, *Sinoxylon sexdentatus*, *Apate monachus* und *Apate degener* eingehend geschildert. Sie stellt eines der bemerkenswertesten Kennzeichen der Bostrychidensymbiose dar. Während die Mycetome von *Rhizopertha* und *Sinoxylon* beinahe ganz der Degeneration verfallen, kommt es bei den beiden *Apate*-Arten nur zu einem partiellen Abbau der Mycetocyten. Die Uneinheitlichkeit dieser Vorgänge unterstreicht noch ein von BUCHNER weiterhin untersuchtes Objekt, *Scobicia chevrieri*. Bei ihm machten sich in den männlichen symbiontischen Organen keinerlei Anzeichen eines Verfalls bemerkbar. Im einzelnen sei bei der schier unübersehbaren Fülle von Mannigfaltigkeiten, die sich bei diesen degenerativen Prozessen ergeben, auf die Beschreibung BUCHNERS verwiesen.

Einige Punkte, vor allem der genauere zeitliche Ablauf des Symbiontenabbaus, blieben in BUCHNERS Darstellung unberücksichtigt. An Hand des großen Schnittmaterials, das mir zur Verfügung stand, konnte ich diese Lücke schließen. Wenn BUCHNER schreibt: „Auch das Tier, welches nur noch diese letzten Mycetomreste enthielt, führte im Hoden neben Massen reifer Spermien noch Spermatogonien und Spermatocyten und ist jedenfalls ein noch durchaus gesundes, funktionstüchtiges Männchen gewesen“, so hat das darin seinen Grund, daß, wie die eigenen Untersuchungen ergaben, die Degeneration der Symbionten im männlichen Geschlecht schon überraschend früh ihren Anfang nimmt. Vereinzelt machen sich in den Mycetomen von älteren männlichen Larven schon auffällige Veränderungen bemerkbar. So begegnete mir einmal eine alte Larve aus einer Normalkultur, deren Mycetome prall mit blassen

Verbänden erfüllt waren. Zwischen diesen wiederum lagen stark gefärbte Bakterienklumpen und teils knorrige Bakterienwuchsformen eingestreut. Wieder erinnerten die Bilder sehr an die Symbiontendegeneration bei Wärmebehandlung. Abgesehen von einigen Ausnahmen pflegen die Mycetome männlicher Larven in der Regel ihr normales Aussehen zu bewahren.

Aber schon auf dem Puppenstadium ist die Situation völlig anders: Jetzt sind schon häufiger insel- oder streifenförmige Degenerationsherde in den Mycetomen anzutreffen. Dabei sind verschiedene Wege des Verfalls bezeichnend. Oft beginnt die Degeneration mit einem Verblässen der Bakterien. Meist erfolgt gleichzeitig eine Vakuolisierung in diesen Bezirken, am Mycetomrand und in der Umgebung der Kerne. Am deutlichsten zeichnen sich diese Prozesse an der Morphologie der Mikroorganismen ab. So ist es durchaus möglich, daß ganze Mycetome uneinheitlich abgewandelte Bakterientypen aufweisen. Kokken, Kokkengröppchen, Stäbchen, Ketten, Klumpen verschiedener Größe und Struktur und Riesenverbände sind dabei die häufigsten Elemente. Abb. 12 zeigt einen Teil eines in fortgeschrittener Entartung befindlichen männlichen Puppenmycetoms, in dem sich fast alle der genannten Bakterienformen vorfinden. Zweifellos unterliegt hierbei bereits ein Teil der Bakterien der Resorption. Normale Verbände sind äußerst selten. Am auffälligsten treten die vielfach verzweigten, aus kokkoiden Gliedern bestehenden Bakterienketten hervor. Ähnliche Gebilde beschreibt auch BUCHNER (1954, Abb. 47) bei *Rhizopertha*; doch spricht er von zarten Fädchen und kommt zu dem Schluß, daß diese sich von den zentralen Körnern oder Fädchen in den Degenerationsschollen ableiten und als der eigentliche Mikroorganismus anzusehen sind. Da mir entsprechende Ableitungsstadien, wie sie BUCHNER zur Verfügung standen, niemals begegneten, möchte ich es dahingestellt sein lassen, ob die bei meinen Untersuchungen öfter aufgetretenen Kokkenkettchen tatsächlich mit diesen Wuchsformen identisch sind. Ihr Habitusbild spricht nämlich viel mehr für einen linearen Wachstumsvorgang und kommt somit den gelegentlich bei Männchen und Weibchen von *Sinoxylon sexdentatus* auftretenden Symbiontenzuständen gleich (BUCHNER 1954, Abb. 71 u. 81). Auch *Apate degener* weist solche, wenn auch in vergrößerter Form, auf (BUCHNER 1954, Abb. 122). Nicht immer aber setzt die Degeneration in der auf Abb. 12 zur Darstellung gebrachten Form ein. Meistens ist der größte Teil des Mycetoms von den Entartungsprozessen noch nicht ergriffen und birgt normale Verbände, während nur gewisse, meist insuläre Bezirke den beginnenden Verfall ankündigen. Andere Mycetome erscheinen ganz normal besiedelt; doch bei genauerem Zusehen stellt man auch hier bereits viele, schon modifizierte Symbiontenformen fest. In einem Fall war der Inhalt eines ganzen Syncytiums eines Puppen-



Abb. 12—12 b. Die natürliche Degeneration der Mycetome männlicher Tiere. Abb. 12 Teil eines in Degeneration befindlichen männlichen Puppenmycetoms. Abb. 12a Ausschnitt aus dem Mycetom eines 12 Tage alten Männchens; Symbionten in Kondensation begriffen. Abb. 12 b Längsschnitt durch ein total degeneriertes Mycetom eines 27 Tage alten Männchens

mycetoms schon total verklumpt und hob sich dadurch scharf von den übrigen Mycetompartien ab. Auch die Kerne beginnen pyknotisch zu werden. Größenunterschiede zwischen den Puppenmycetomen beider Geschlechter fielen mir nicht auf.

Hatten wir bei den Puppen häufig noch normale Mycetome notiert, so sind bei fast allen frischgeschlüpften Männchen destruktive Symptome verschiedener Grade anzutreffen. Im Zusammenhang mit Kondensationsprozessen der Symbionten wird die Besiedlungsdichte wesentlich lockerer. Ein einziges Mal begegneten mir bei einem Männchen total sterile Mycetome, welche jegliche Spuren von Degeneration vermissen ließen. Da ja bekanntlich der Verfall der Bakterien nicht ohne Auswirkung auf die Beschaffenheit der Mycetome bleibt, wäre es möglich, daß es sich hier um eine Fehlinfektion handelt.

Bei 12 Tage alten Tieren befinden sich die Mycetome vielfach schon im Stadium fortgeschrittener Entartung. Die Kondensation der Symbionten hat inzwischen weiter zugenommen (Abb. 12a). Sehr oft treten schon ansehnliche Bakterienkonglomerate auf, die durch Verschmelzung der primären Kondensationsstadien entstanden sind. Aus der Besiedlungsdichte ist zu schließen, daß Wachstumsvorgänge sicherlich ganz eingestellt sind, zumal auch die Mycetome meist schon erheblich an Volumen eingebüßt haben. Erstaunlich ist das gute Tinktionsvermögen der Bakterien auf diesem Stadium. Die wenigen noch vorhandenen Kerne sind teils extrem pyknotisch, teils überhaupt schon zerfallen. Auch bei diesen natürlichen Degenerationsvorgängen männlicher Mycetome bleibt die Individualität der Syncytien erhalten. Der Auffassung BUCHNERs, daß die Degeneration von der Mycetommitte ausgeht, wo die einzelnen Syncytien keilförmig zusammenstoßen, kann ich mich nur zum Teil anschließen. Sie kann ebensogut auch an der Peripherie der Mycetome beginnen, oder sogar gleichzeitig den gesamten Inhalt eines Organs erfassen.

Wie schnell der Abbau weiter um sich greift, zeigt Abb. 12b. Sie stellt einen Längsschnitt eines Mycetoms von einem 27 Tage alten Männchen dar. Die Verklumpung der Bakterien hat ein für dieses Alter erstaunliches Ausmaß angenommen. Manche Syncytien bestehen überhaupt nur mehr aus wenigen homogenen Symbiontenklumpen. Daß schon ein guter Teil der Symbionten auf lytischem Wege eliminiert wurde, sagt nicht zuletzt die geringe Größe des Mycetoms ($90 \mu \times 55 \mu$). Eine Verallgemeinerung dieser Befunde ist jedoch nicht zulässig, da bei der starken Variabilität des Mycetomabbaus erhebliche graduelle Unterschiede vorkommen.

Alle älteren Männchen (6 Wochen und darüber) aber hatten Mycetome, die durchwegs dem Degenerationsgrad der Abb. 12b entsprechen. Die verschmolzenen Symbiontenballen verlieren um diese Zeit schon an

Färbbarkeit und beginnen zu zerfallen. Dabei nimmt der Umfang der Mycetome zusehends ab, so daß sie oft nur mehr schwer aufzufinden sind. In Tabelle 6 sind in zeitlicher Reihenfolge die Masse der Mycetome verschiedenster Degenerationsstufen zusammengestellt. Sie veranschaulichen am besten die rasche Atrophie der symbiontischen Organe, die sich unmittelbar nach dem Schlüpfen der Käfer vollzieht.

Die genaue Kenntnis der verschiedenen Phasen der Symbionten-degeneration im männlichen Geschlecht war die Voraussetzung für die Durchführung folgenden Versuchs: Es wurden 2 Wochen alte Männchen bei 38° C gehalten, in der Absicht, vielleicht eine Beschleunigung des auf

Tabelle 6

Alter der Männchen in Tagen	Mycetomgröße in μ	Degenerationsgrad ¹	Alter der Männchen in Tagen	Mycetomgröße in μ	Degenerationsgrad ¹
1	356 × 192	2	70	90 × 60	5
	246 × 219	2		75 × 70	5
12	204 × 75	3		75 × 60	5
	~~170 × 90~~	4		60 × 38	5
	153 × 85	4	98	67 × 45	5
	120 × 120	4		60 × 30	5
27	105 × 45	3		60 × 30	5
	100 × 38	4	147	100 × 60	4
	90 × 55	5		90 × 60	5
	55 × 30	5		75 × 45	5
42	90 × 67	3		60 × 38	5
	55 × 55	4	¹ 1 = normal; 2 = erste Anzeichen degenerativer Veränderung; 3 = Degeneration mittleren Grades; 4 = starke Degeneration; 5 = extreme Degeneration.		
56	90 × 50	5			
	60 × 45	5			
	60 × 20	5			
	55 × 35	5			
	45 × 15	5			

natürlichem Wege eingeleiteten Symbiontabbaus herbeiführen zu können. Erstaunlicherweise führte jedoch dieses Experiment zu ganz unerwartet anderen Resultaten. Die hohe Temperatur wirkte sich nämlich in diesem Falle nicht als Beschleunigungs-, sondern als Verzögerungsfaktor der Degeneration aus. Ähnliches konnte SCHNEIDER (1956) an *Calandra* beobachten. Wir werden in der Diskussion noch einmal auf diese Erscheinung zurückkommen.

XI. Anomalien an den symbiontischen Einrichtungen

Bei der großen Zahl von Präparaten, die ich im Laufe meiner experimentellen Symbioseuntersuchungen an *Rhizopertha dominica* zu durchmustern hatte, stieß ich wiederholt auf anormale Mycetomverhältnisse. Ein besonderes Kuriosum stellten dabei die Fälle dar, bei denen nicht

zwei, sondern drei Mycetome vorhanden waren. Zweimal hatte ich das Glück, dies zu beobachten.

Abb. 13 zeigt z. B. drei dicht beisammen liegende Mycetome einer weiblichen Imago. Jedes der drei Organe besitzt normale Größe und Besiedlungsdichte. Auffällig ist, daß sich eines von ihnen durch die geringe Färbbarkeit seiner Symbionten von den beiden übrigen so sehr unterscheidet. In die verblaßten Verbände sind gut färbbare Kokken



Abb. 13. Drei Mycetome einer weiblichen Imago

und Kokkenkettchen dünn eingestreut. Vielleicht gibt uns diese für das gesamte überzählige Organ charakteristische Störung in der Besiedlung einen Anhaltspunkt für dessen Entstehung? Von den akzessorischen Zellen wissen wir, daß sie als die rudimentäre Wohnstätte eines verlorengegangenen zweiten Symbionten anzusehen sind; haben sie doch auch noch die Tendenz, gelegentlich Symbionten aufzunehmen, die in ihnen aber nicht zur Vermehrung kommen. Mit großer Wahrscheinlichkeit liegt das an den physiologischen Voraussetzungen, die sich dort bieten. Nach diesen Zusammenhängen wäre es gut möglich, daß von einem Teil der akzessorischen Zellen durch eine zufällig gute Beschickung mit Symbionten ein drittes Mycetom aufgebaut wurde. Bekanntlich müssen ja Mikroorganismen vielfach in einer gewissen Anzahl vorhanden sein,

um sich vermehren zu können (GRÄBNER 1954). Mit dieser Art der Entstehung des dritten Organs würden auch die offensichtlichen Störungen an seinen symbiontischen Insassen ihre Erklärung finden. Außerdem wissen wir, daß sich Symbionten mitunter auch in nicht artspezifischem Zellmaterial vermehren können. So fand z. B. KOCH (1936) einmal bei *Lyctus linearis* G. die beiden Symbionten der Mark- und Rindenschicht der Mycetome vollkommen vertauscht. Während sich aber die Rosetten der A-Symbionten auch im Markteil gut vermehrten, verhielten sich die wenigen B-Symbionten in den Rindensyncytien völlig passiv.

Im zweiten Falle ist eines der drei Mycetome abgetrennt und liegt auf der gegenüberliegenden Seite des Darms. Da es sich diesmal um eine durchwegs einheitliche Besiedlung handelt, ist anzunehmen, daß das dritte Organ entweder von Grund auf angelegt wurde oder durch Zerlegung entstanden ist. Leider können wir an Hand dieser Einzelfälle nichts über den genaueren Hergang der Entstehung dieser überzähligen Mycetome aussagen; deshalb müssen wir uns vorerst mit der Erörterung der verschiedenen Möglichkeiten begnügen.

Ganz andere Anomalieerscheinungen konnte ich an einer weiblichen Puppe beobachten: Beide Mycetome liegen bei ihr dicht beisammen im hinteren Abschnitt des Abdomens. Alle Bestandteile tragen zudem Anzeichen einer mehr oder minder schweren Schädigung, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll.

Damit will ich die Schilderung der bisherigen experimentellen Symbiosestudien am Getreidekapuziner, *Rhizopertha dominica* F., beschließen. Im folgenden sollen Untersuchungen über die Symbiose des Getreideplattkäfers, *Oryzaephilus surinamensis* L., zur Darstellung kommen.

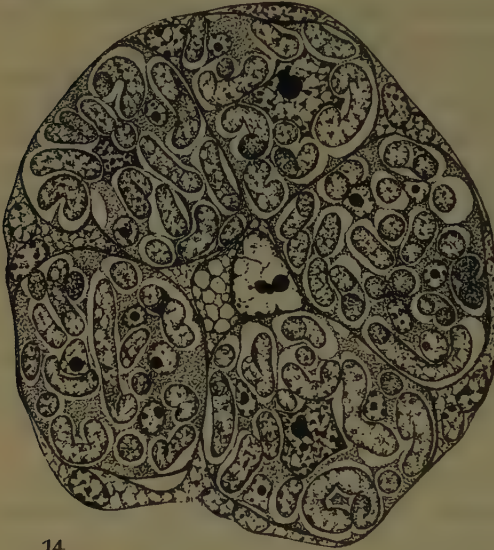
B. *Oryzaephilus surinamensis* L.

I. Die symbiontischen Einrichtungen von *Oryzaephilus surinamensis* L.

Der Getreideplattkäfer, *Oryzaephilus surinamensis* L., aus der Familie der Cucujiden, ist ein ausgesprochener Kosmopolit, der gerne mit Handelsgütern verschiedenster Art verschleppt wird. Seine Ernährungsmöglichkeiten sind so vielseitig, daß ein großer Teil an pflanzlichen Roh- und Fertigprodukten der Gefahr seines Befalls ausgesetzt ist. So scheut er nicht einmal vor Rauch- und Schnupftabak, Nüssen, Blumenzwiebeln, Sämereien usw. zurück. Kurze Generationsdauer und gute Züchtbarkeit machen ihn zu einem dankbaren Versuchsobjekt.

Über seine Bakteriensymbiose sind wir durch die Arbeiten von PIERANTONI (1929, 1930) und KOCH (1930, 1931) gut unterrichtet: Vier runde bis ovale Mycetome sind bei Larve, Puppe und Imago völlig isoliert von allen übrigen Organen in den Fettkörper eingebettet. Zwei liegen dicht beieinander dorsal über dem Darmtraktus, zwei weitere einzeln ventral beiderseits des Nervensystems. Wir orientieren uns an

Hand der Abb. 14 (nach KOCH 1931) über ihren komplizierten histologischen Aufbau. Ein bindegewebiges Hüll epithel, das sich auch zwischen die einzelnen radiär gelagerten Syncytien einschiebt, schließt sie nach außen ab. Ihm gehört auch noch der auffallend große, zentrale Riesenkern an, der eine Besonderheit dieser Mycetome ist. Jedes der 12 bis 15 mehrkernigen Syncytien eines Organs birgt in seiner Mitte wiederum einen vergrößerten, hypertrophierten Zentralkern, um den sich



14

10 μ

Abb. 14. Larvales Mycetom von *Oryzaephilus surinamensis* L. (Nach KOCH)

die pleomorphen, meist schlauchförmigen, bis zu 70 μ langen Bakterien lagern. Erst im geschlechtsreifen Weibchen zerteilen sie sich in runde bis ovale Infektionsformen, die sich auf dem Wege über die Ovarialinfektion den Nachkommen mitteilen. Nach dem Schlüpfen der Larve beginnt die histologische Differenzierung der bis jetzt noch sehr einfach gebauten Organe. Zu diesem Zeitpunkt sind auch aus den kurzen Infektionsformen wieder die langen Symbiontenschläuche entstanden.

II. KOCHS Temperaturversuche und ihre natürliche Auswirkung

Durch Temperaturerhöhung auf 36° C gelang es KOCH (1936), die Symbionten von *Oryzaephilus* zu eliminieren. 32—33° C bilden dabei den Schwellenwert für die Reduktion der pflanzlichen Mikroorganismen. Die sterilen Mycetome kommen in allen nachfolgenden Generationen in der üblichen Weise zur Anlage. Bezeichnend für die *Oryzaephilus*-Symbionten ist die unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit der einzelnen Wuchsformen. Während die kurzen, gedrungenen, stark färbaren Infektionsstadien besonders thermosensibel reagieren, erweisen sich die schlauchförmigen, langen Symbiontenzustände als relativ wärmeresistent. Werden geschlechtsreife Weibchen in einen Thermostaten mit 36° C gegeben, so unterliegen erstere der Degeneration. Die normal färbbare Hauptmasse der runden bis ovalen Symbionten wächst dagegen in lange Schläuche aus und vermag so der hohen Temperatur

länger zu widerstehen. Die Folge davon sind einerseits Nachkommen mit reduziertem Symbiontenbestand, andererseits aber auch solche mit sterilen Mycetomen. Letzteres ist auf eine Fehlinfektion der Eier zurückzuführen. Die langen Symbiontenschläuche eignen sich also offenbar nicht als Migrationsstadien.

Durch Zufall gelang es mir, eine in diesem Zusammenhang sehr interessante Entdeckung zu machen. In einem Lagerhaus der Oberpfalz stieß ich auf ein Milodepot (*Sorghum spec.*, Importware unbekannter Herkunft), in dem sich eine Massenpopulation von verschiedenen Vorratsschädlingen befand. Neben dem Reiskäfer, *Calandra oryzae* L., dem Reismehlkäfer, *Tribolium confusum* Duv., und dem Leistenkopflattkäfer, *Laemophloeus ferrugineus* STEPH., fand sich auch der Getreidelattkäfer, *Oryzaephilus surinamensis* L. Der Kornkäfer war im Vergleich zu den anderen Schädlingen weit in der Überzahl. Die vornehmlich durch den Schädlingsbefall bedingte Anreicherung von Feuchtigkeit hatte eine stellenweise sehr hohe Erwärmung des Milolagers zur Folge. Die Körner waren teils schon verschimmelt und muffig. An verschiedenen Stellen wurden Proben der Schädlinge entnommen und im Brutschrank bei 28° C weitergezüchtet. Die Untersuchung der Nachkommen von *Oryzaephilus* und *Calandra* brachte eine große Überraschung. Nicht weniger als 45% der Individuen von *Oryzaephilus* besaßen völlig sterile Mycetome, während sie bei den restlichen Tieren teils normal teils verschieden stark degeneriert waren. Die Wärmeentwicklung im Milolager hatte also dazu ausgereicht, die Symbionten der Elterntiere, welche sich in den Wärmenestern aufhielten, zu schädigen. Diese Befunde liegen ganz im Sinne von KOCHs Temperaturversuchen. Damit ist zum erstenmal bei *Oryzaephilus surinamensis* L. eine Lösung des symbiontischen Bündnisses im Naturexperiment unter den besonderen, bei der Vergesellschaftung mit *Calandra* oft gegebenen Umweltsbedingungen erwiesen.

Auch SCHNEIDER (1956) fand bei *Calandra oryzae* L. in einigen Fällen symbiontenfreie Nachkommen, was ebenfalls auf die erhöhte Temperatur im Milospeicher zurückzuführen war.

Nachdem *Oryzaephilus* ein Kosmopolit ist, wäre eine Untersuchung von Stämmen, welche in tropischen und subtropischen Gebieten nachweislich längere Zeit beheimatet waren, von großem Interesse. Die Existenz von symbiontenfreien Populationen in diesen Zonen könnte danach gar nicht mehr überraschen.

III. Kälteversuche

Schon längst erschien es wünschenswert, die Temperaturversuche mit *Oryzaephilus* auch auf *niedere* Temperaturbereiche auszudehnen. Gut gedeihende Käferkulturen gaben mir die Möglichkeit, derartige

Untersuchungen durchzuführen. Nach einer Reihe von Vorversuchen wurde $+4^{\circ}\text{C}$ als Versuchstemperatur gewählt. Nur *junge* Imagines waren — ähnlich wie bei *Rhizopertha* — in der Lage, die Kältebehandlung längere Zeit durchzustehen. So waren z. B. von 119 Versuchstieren nach 86 Tagen Aufenthalt im Eisschrank noch 68 am Leben (s. Tabelle 7). Bei einer Vorzugstemperatur von $+33,57 \pm 0,26^{\circ}\text{C}$ (HERTER 1953) ist diese Kälteverträglichkeit der Käfer beachtlich.

Tabelle 7

Zahl der Versuchstiere: 119	
Kontrolle nach Tagen	Zahl der lebenden Tiere
14	104
34	101
86	68
116	2

Die in den Eisschrank ($+4^{\circ}\text{C}$) gebrachten, 3 Wochen alten Imagines verfielen einer totalen Lethargie. In gewissen Zeitabständen wurden die Tiere bei Zimmertemperatur aufgetaut und jeweils einige Weibchen¹ fixiert. Gleichzeitig kamen etwa 10—15 Käfer zur Vermehrung wieder in Normaltemperatur (28°C).

Dadurch war es möglich, sowohl das Verhalten der Symbionten in Kälte als auch ihr weiteres Schicksal bei 28°C zu studieren.

Schon einige Tage nach dem Einsetzen in $+4^{\circ}\text{C}$ machen sich an den Symbionten der Weibchen die ersten Veränderungen bemerkbar. Die runden bis ovalen Infektionsformen beginnen größtenteils in Schläuche auszuwachsen. Dieser Vorgang wird zusehends deutlicher, so daß in den Mycetomen von Weibchen, welche nach 34 Tagen Kältebehandlung fixiert werden, die schlauchförmigen Symbiontentypen in großer Zahl vorliegen. Ein ausgeprägter Pleomorphismus ist zudem bezeichnend für einen weiteren Teil der Mycetominsassen. Keulige, aufgedunsen und gequollen erscheinende Bakterienformen sind dabei dominierend. Eine genaue Betrachtung dieser Involutionsstadien läßt eine zunehmende Vakuolisierung erkennen. Daneben finden sich aber auch noch in geringer Zahl kurze Elemente. Von der Gesamtheit der Besiedlung heben sich extrem ausgewachsene und stark färbbare Einzelbakterien gut ab. Die Syncytien sind noch lückenlos besiedelt. Auch nach 86 Tagen Kälteaufenthalt werden diese Verhältnisse nicht grundlegend verändert. Lediglich die morphologische Umgestaltung der Bakterien ist inzwischen etwas weiter fortgeschritten und da und dort unterliegen jetzt schon deutlich etliche Symbionten der Resorption. Dieser Vorgang kündigt sich in „angefressenen“ und schwammig aussehenden Bakterienleibern an. Die Besiedlung wird dadurch leicht aufgelockert. Schollige Gebilde, die ebenfalls von Symbionten herrühren, liegen verstreut dazwischen. Aber nicht alle Mycetome weisen diese Veränderungen auf. Auch hier

¹ Die Weibchen von *Oryzaephilus* lassen sich leicht daran erkennen, daß ihnen im Gegensatz zu den Männchen der Dornfortsatz am Femur des dritten Beinpaars fehlt.

im Kälteversuch zeigt sich wieder das jetzt schon zur Genüge bekannte variable Resistenzvermögen der pflanzlichen Einmieter. So begegnen einem nach 86tägigem Kälteeinfluß auch Mycetome, die nur mit runden bis ovalen, bisweilen aber gedrunghenen, pleomorphen Bakterien besiedelt sind.

Daraus geht eine deutliche Schädigung der Symbionten der meisten Tiere in diesem Temperaturbereich hervor. Durch den langsamen Ablauf aller physiologischen Prozesse bei Kälte erfährt auch die Degeneration der Mikroorganismen eine beträchtliche Verzögerung. Folgender Versuch vermag dies sehr anschaulich zu machen:

Weibchen, die 24 Tage bei $+4^{\circ}\text{C}$ zugebracht haben, werden anschließend in Normaltemperatur gegeben. An den bis dahin gut besiedelten Mycetomen kommt nun erst die Auswirkung der Kältebehandlung zum Vorschein. Durch Verfall und Resorption der Bakterien lichtet sich ein Teil der Syncytien immer mehr, und zurück bleibt nur noch das plasmatische Grundgerüst mit den Kernen, in das die Symbionten eingebettet lagen (s. Abb. 15). Dadurch ist die Möglichkeit gegeben, den komplizierten Aufbau der Mycetome zu studieren. Wenn auch die einzelnen Syncytien in diesem entleerten Zustand eine mehr oder minder regelmäßige, septenartige Aufteilung aufweisen, so kann ich mich in Übereinstimmung mit KOCH (1931) nicht der Auffassung PIERANTONIS (1930) anschließen, daß dieser Kammerung einzelne wohlabgegrenzte Zellen zugrunde liegen. Es handelt sich vielmehr bei den einzelnen Mycetomfächern um einheitliche Syncytialkomplexe.

Mit dem Aufenthalt in normaler Temperatur nimmt in den meisten Fällen auch die Degeneration der Mycetome weiter zu. Welches Ausmaß sie nach 29 Tagen erreicht haben kann, gibt Abb. 15 wieder. Der überwiegende Teil der Syncytien ist extrem verödet. Nur noch vereinzelte Bakterien und Bakterienfragmente liegen dort dem plasmatischen Maschenwerk an. Die degenerierten Symbionten sind somit fast restlos resorbiert. Dieser Prozeß scheint ziemlich rasch zu erfolgen, denn auch in den nur mehr teilweise besiedelten, gerade in Degeneration begriffenen Syncytien finden sich kaum Überreste von Involutionsformen der Symbionten. Etliche Syncytien wiederum sind noch fast normal mit Bakterien angefüllt. Bei diesen Vorgängen bleibt die Größe der symbiontischen Organe erhalten. Auch das Hülleepithel wird dadurch nicht in Mitleidenschaft gezogen. Nach vollendeter Verödung fügt sich die ehemalige Bakterienwohnstätte so unauffällig in den Fettkörper ein, daß es nicht leicht ist, sie wieder zu erkennen.

Aber es reagieren durchaus nicht alle Tiere so. Bei manchen tritt nach einer kurzen Periode des Abbaus der Bakterienorgane wieder eine Normalisierung ein. Auch die Vermutung, daß durch einen verlängerten Aufenthalt in Kälte die Degeneration der Mycetome bei Normaltemperatur

forciert würde, bestätigt sich nicht. Dies beweisen Weibchen, deren Mycetome sich nach 86tägigem Kälteeinfluß bei 28° C kaum anders verhielten als jene von Tieren, welche nur 24 Tage im Eisschrank gehalten



Abb. 15. Dorsalmycetom einer weiblichen Imago von *Oryzaephilus surinamensis* L., welche 24 Tage bei + 4° C und anschließend 29 Tage bei 28° C verbrachte. Symbiontenabbau in den Syncytien!

wurden. Die Schädigung der Bakterien durch niedrigere Temperatur erreicht offenbar einen bestimmten Grad und geht dann nicht mehr weiter. Warum aber die Kälte auf die Symbionten mancher Tiere keine oder fast keine degenerativen Auswirkungen hinterläßt, entzieht sich unserer Kenntnis. Möglicherweise ist das Reaktionsvermögen bei den einzelnen Individuen verschieden stark ausgeprägt.

Die Verödung der Mycetome von Kältetieren bleibt natürlich nicht ohne Folgen für die Besiedlung der Bakterienorgane ihrer F_1 -Generation. Im gleichen Maße wie die Mycetome kältebehandelter Weibchen bei 28° C unterschiedlich stark und schnell veröden, ist auch die Besiedlungsdichte der symbiontischen Organe ihrer Nachkommen recht verschieden. Die ersten Tiere der F_1 -Generation besitzen meist Mycetome mit sehr stark vermindertem Symbiontenbestand und dickem Hülleepithel. Lange Bakterienschläuche und Schollen herrschen vor. Soweit diese nicht ohnehin zugrunde gehen sind sie bestimmt nicht mehr infektiöstüchtig. Erst nach einer gewissen Zeit, während welcher die Verödung der Mycetome weiter voranschreiten konnte, gehen aus den Eiern auch sterile F_1 -Tiere hervor. Von fünf untersuchten F_1 -Tieren, welche von Eltern abstammten, die 58 Tage bei +4° C und anschließend 40 Tage bei 28° C verbrachten, besaßen zwei ganz sterile Mycetome, eines sehr kleine mit mäßiger bis schwacher Besiedlung, zwei weitere wiesen sogar fast normale symbiontische Organe auf.

Wird die Kältebehandlung bei den zum Teil ihrer Symbionten beraubten F_1 -Tieren fortgesetzt, so führt sie in der F_2 -Generation zu weiteren symbiontenfreien Individuen. Eine Parallele dazu bieten auch die Hitzeversuche, bei denen die Ausschaltung der Mikroorganismen auch nicht immer im Verlaufe einer Generation gelingt. Somit können die *Oryzaephilus*-Symbionten sowohl durch Hitze als auch durch Kälte eliminiert werden.

IV. Versuche mit den antibiotischen Wirkstoffen Aureomycin und Terramycin

Nach meinen Erfahrungen an *Rhizopertha* erschien es lohnend, auch das Verhalten der *Oryzaephilus*-Symbionten gegenüber antibiotischen Wirkstoffen zu untersuchen. Da die pflanzlichen Einmieter von *Oryzaephilus* auch in Mycetomen lokalisiert sind, wie bei *Rhizopertha*, konnte unter Verwendung derselben Antibiotica bei gleicher Methodik (s. S. 668 u. 669) und Dosis die Wirkstoffempfindlichkeit beider Symbiontenstämme gut verglichen werden. Nur wurden diesmal Haferflocken anstatt Körner mit Aureomycin bzw. Terramycin durchtränkt. Allen Versuchen lag eine einheitliche Wirkstoffmenge von 50 mg/25 ml H₂O zugrunde.

In einer ersten Versuchsserie wurden die Larven vom Ei auf in der mit den Antibiotica durchtränkten Diät aufgezogen, und zwar liefen gleichzeitig die Versuche mit Aureomycin und Terramycin parallel. Während ersteres nur eine geringe Entwicklungsverzögerung gegenüber den Kontrollen verursachte, wurde durch die Terramycindiät nicht nur die Metamorphose stark verzögert, sondern auch — wie bei *Rhizopertha* — die Sterblichkeit der jungen Larven wesentlich erhöht.

Viel einheitlicher wirkte sich der Einfluß beider Antibiotica auf die Symbionten aus. Ihre Schädigung war mitunter so stark, daß ein Teil der Versuchstiere schon im dritten bis vierten Larvenstadium symbiontenfreie Mycetome besaß. Trotz der geringen Größe solcher steriler symbiontischer Organe blieb ihre Struktur in allen Einzelheiten erhalten. Daneben fanden sich bei gleichaltrigen Larven auch Mycetome mit stark degeneriertem Symbiontenbestand. Selbstverständlich waren dann die Mycetome der jungen, soeben geschlüpften Imagines entweder völlig oder zumindest weitgehend symbiontenfrei. Soweit die restlose Elimination der Symbionten im Verlaufe einer Generation nicht gelang, konnte sie in der nächstfolgenden Generation bei gleicher Behandlung erzielt werden. Niemals traten bei diesen Versuchen wirkstoffresistente Bakterienformen auf, wie sie bei *Rhizopertha* immer wieder zu beobachten waren.

Weiterhin war zu entscheiden, ob eventuell in Parallele zu den Hitzeversuchen auch durch den Einfluß der Antibiotica die Infektionsformen absterben und die übrigen kurzen Symbiontentypen der Weibchen zu langen, resistenten Schläuchen auswachsen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden daher reifen Weibchen die mit Aureomycin bzw. Terramycin präparierten Haferflocken als Nahrung geboten. Beide Antibiotica wirkten auch hier in derselben Weise schädigend auf die Symbionten. Die Syncytien der nach 30 Tagen untersuchten Weibchen waren teils nur mehr locker, teils überhaupt nur mehr sporadisch mit degenerativ veränderten Bakterien besiedelt. Ein Auswachsen der kurzen Symbionten zu langen Schläuchen war nicht zu beobachten. Die unverzüglich einsetzende Degeneration verhinderte derartige Wachstumsvorgänge.

Nach 8 Wochen war der Symbiontenbestand bis auf wenige Involutionsformen resorbiert. Große Alveolen durchsetzten die Syncytien. Die Mycetome selbst hatten an Volumen eingebüßt. Bei der geringen Resistenz der *Oryzaephilus*-Symbionten gegenüber Aureomycin und Terramycin gelangt man auf diese Weise recht leicht zu symbiontenfreien Käferkulturen: So wurden z.B. Imagines 10 Wochen lang mit Wirkstoffen in der angegebenen Dosis behandelt. Alle nach dieser Zeit untersuchten F_1 -Tiere, welche vorsorglich zur Entwicklung im gleichen Medium belassen wurden, besaßen sterile Mycetome.

Was die Degeneration der Symbionten im einzelnen betrifft, so geht bei der eindeutig bakteriziden Wirkung von Aureomycin und Terramycin auf diese pflanzlichen Keime ein großer Teil ohne vorherige morphologische Veränderung zugrunde und wird resorbiert. Die anderen werden zu pleomorphen, blasigen Gebilden, die in der Folge ein schwammiges, lockeres Aussehen annehmen, um dann allmählich zu Bakterien-schutt und -gerinnsel zu zerfallen. Große polymorphe Klumpen können

durch Zusammenfließen degenerierender Symbiontenleiber entstehen. *Niemals waren Unterschiede im Wirkungsgrad beider Antibiotica zu beobachten.*

Unter dem Einfluß der antibiotischen Präparate wurden auch die Ovarien sichtlich geschädigt. Die Eiröhren begannen sich rückzubilden und nach 3—4 Monaten sistierte die Eiablage vollkommen. Von den Weibchen aber, welche daraufhin in Normalkost zurückgesetzt wurden, begannen einige wieder Eier zu legen. Die hemmende Wirkung auf die Eiproduktion war in diesen Fällen also nur vorübergehend und hielt nur für die Zeit des unmittelbaren Stoffeinflusses an.

Die Erfahrungen mit den beiden Antibiotica an den *Rhizopertha*- und *Oryzaephilus*-Symbionten mahnen zur Vorsicht vor Verallgemeinerung. Einer ausgesprochenen Wirkstoffresistenz eines Teils der Symbionten von *Rhizopertha* steht eine starke Anfälligkeit der symbiontischen Mikroorganismen von *Oryzaephilus* gegenüber. Diese Erscheinung der unterschiedlichen Reaktion der pflanzlichen Mikroben auf antibiotische Präparate kennen wir vor allem auch aus der Praxis der Bakteriologie und Medizin.

V. Das Geschehen in den männlichen Imaginalmycetomen

Trotz der umfangreichen Symbiosestudien an *Oryzaephilus* vermissen wir bis heute immer noch Angaben über die genaueren Vorgänge in den männlichen Imaginalmycetomen. Deshalb soll abschließend über die Untersuchungen kurz berichtet werden, welche ich darüber anstellte:

Bereits nach dem Schlüpfen der Käfer unterscheiden sich die Mycetome der Männchen durch ihre mehr oder minder lockere Besiedlung mit langen, chromatinreichen Bakterienschläuchen von den dichter besiedelten symbiontischen Organen der Weibchen. Wir dürfen darin schon die ersten Anzeichen einer destruktiven Entwicklung in den männlichen Mycetomen sehen, denn diese verfallen von jetzt ab einer zunehmenden Degeneration. Während sich die Symbionten der Weibchen zu diesem Zeitpunkt stark vermehren, schwinden die Mycetominsassen der Männchen immer mehr dahin. Sie gehen dabei meist in runde bis ovale, bisweilen auch pleomorphe Gebilde über. Durch Verschmelzungsvorgänge wird die Zahl der Symbionten immer mehr verringert. Gleichzeitig unterliegt ein Teil derselben der Resorption. Dadurch erfahren die Mycetome innerhalb 32 Tagen eine völlige Umgestaltung (Abb. 16). Etliche Syncytien bestehen schon nach dieser kurzen Zeit nur mehr aus stark färbbaren Bakterienballen und blassen, blasigen Elementen.

Merkwürdig verhalten sich bei diesem Degenerationsprozeß die Kerne der Syncytien. Sie wandern allmählich an den Rand der Mycetomfächer und fließen dort zu kompakten Kernhaufen zusammen. Abb. 16

zeigt zwei Syncytien mit solchen randständigen Kerndegeneraten. An der Innenseite werden diese durch die Symbionten vielfach eingedellt.

Mit diesen Ergebnissen sind bereits die wichtigsten Momente der natürlichen Mycetomdegeneration, der zeitliche Faktor und die Art ihres Verlaufs, erfaßt. Die so angebahnten Prozesse schreiten kontinuierlich fort, wobei die Symbiontenmasse zusehends dezimiert wird. Nach 15 Wochen sind die Mycetome schon sehr klein, bieten sonst aber immer noch das gleiche Bild: Fächeriger Bau, randständige Riesenkerne und



Abb. 16. Zwei degenerierende Syncytien aus dem Mycetom einer 32 Tage alten männlichen Imago von *Oryzaephilus surinamensis* L. mit randständigen Kerndegeneraten

pleomorphe Symbiontenballen, die weiterhin an Größe zugenommen haben.

Bei noch älteren Tieren fließt der Inhalt der Mycetome schließlich zu einigen großen Klumpen zusammen. Die Grenzen der Syncytien verwischen sich immer mehr, und zuletzt sind nur mehr wenige, von einer Hülle umschlossene, schollige Ru-

dimente vorhanden. Ob diese unscheinbaren letzten Reste auch noch resorbiert werden oder zeitlebens erhalten bleiben, ist unwesentlich und wurde auch gar nicht weiter verfolgt.

C. Diskussion der Ergebnisse

Die Wahl der Methodik zur Elimination der symbiontischen Mikroorganismen richtet sich jeweils nach der Art der symbiontischen Einrichtungen des Versuchsobjekts. Angefangen bei den bahnbrechenden Versuchen der experimentellen Symbioseforschung von CLEVELAND (1924, 1925, 1928), ASCHNER (1932, 1934), KOCH (1933, 1936) u. a. bis zu den heutigen experimentellen Symbioseuntersuchungen, wird die Lösung des symbiontischen Bündnisses im wesentlichen entweder auf rein mechanischem oder auf chemisch-physikalischem Wege durchgeführt. Liegt bei ersterem die Beeinflussung der Symbionten meist völlig in der Hand des Experimentators — z. B. Abpräparieren der symbiontenbeschnittenen Eischalen bei *Sitodrepa* (KOCH 1933), oder Entfernen der bakteriengefüllten Kokons bei *Coptosoma* (s. BUCHNER 1940, S. 362) —, so ist der Erfolg bei letzterem fast immer von der Reaktion der Symbionten selbst und vom Verhalten des Wirtsorganismus gegenüber den Versuchsbedingungen mitbestimmt. In diesen beiden Faktoren

liegen in erster Linie auch die individuellen Unterschiede in den Versuchsergebnissen bei chemisch-physikalischen Untersuchungsmethoden begründet, wie sie bei *Oryzaephilus* und *Rhizopertha* so häufig zu beobachten waren.

Fragen wir uns, warum z. B. bei *Rhizopertha* der Grad der Mycetomdegeneration nach Abschluß der Entwicklung bei 38° C im einzelnen so verschieden ist (s. Tabelle 2), so könnte dafür eine unterschiedlich starke Infektion des Eimaterials ebenso verantwortlich sein wie die Konstitution der Wirtstiere. Kultivierungsversuche von HEITZ (1927) und GRÄBNER (1953) an den Symbionten von *Sitodrepa panicea* sprechen nämlich dafür, daß bei einer stärkeren Besiedelung der embryonalen Mycetocyten die Symbionten viel mehr befähigt sind, ungünstigen Einflüssen zu widerstehen und sich zu vermehren als bei einer schwachen Aussaat von Infektionsformen. Wir dürfen dabei auch an eine gegenseitige Förderung der Symbionten denken, denn auch GRÄBNER schreibt: „Es ergab sich, daß die Vermehrungsrate abhängig von der Einsaatmenge ist, ja es scheinen sogar die Zellen, die von anderen umgeben sind, eher und besser zu wachsen als diese.“ So benötigte GRÄBNER anfangs mindestens 12–15 Hefen, um eine Vermehrung zur Weiterkultur zu erhalten.

Diese Verhältnisse lassen sich gut mit denen in embryonalen Mycetocyten vergleichen, wo auch eine relativ geringe Anzahl von Bakterien vor die Aufgabe gestellt ist, sich unter weniger günstigen Bedingungen (erhöhte Temperatur) zu vermehren. Wenn nach Abschluß der Metamorphose die symbiontischen Organe so unterschiedlich geschädigt sind, so hängt das, nach obigen Erfahrungen zu schließen, sicherlich auch zum Teil von der Größe ihrer embryonalen „Initialkulturen“ ab.

Die Tatsache der gegenseitigen Förderung der Symbionten kommt auch in einer weiteren, während der Degeneration der Mycetome von *Rhizopertha* häufig gemachten Beobachtung zum Ausdruck: Auffallend war dabei, daß sich die ersten Schäden fast immer an der Peripherie der Syncytien abzeichneten, um erst später in das Innere überzugreifen. Offensichtlich ist das Resistenzvermögen der am Rande liegenden Symbionten viel geringer als das der im Zentrum befindlichen. So brauchen wir Verlauf und Ergebnis experimenteller Untersuchungen nicht nur als Faktum hinzunehmen, sondern können beides, dank unseres heutigen Wissens, auch einer Erklärung näherbringen.

Für die individuell verschiedene Verödung der Mycetome ist nicht zuletzt auch das harmonische Eingegliedertsein der Symbionten in den Wirtsorganismus ausschlaggebend. Nur allzu oft bleibt dieser Faktor unberücksichtigt, obwohl es doch nahe liegt, daß der von der Konstitution der Wirtstiere abhängige Grad der gegenseitigen Wechselbeziehungen zwischen beiden Partnern des symbiontischen Systems auch

maßgeblichen Einfluß auf die Degeneration der Mycetome innerhalb eines gewissen Zeitraumes ausübt.

Nachdem wir von der Fähigkeit der Symbionträger wissen, die Vermehrungsquote ihrer pflanzlichen Einmieter zu regulieren, könnten wir die künstliche Symbiontenelimination leicht als die Folge einer durch die Versuchsbedingungen begünstigten Auseinandersetzung zwischen Wirt und Symbionten auffassen, in deren Verlaufe letztere unterliegen. Wir hätten es demnach mit Vorgängen zu tun, wie sie sich bei parasitären Infektionen immer wieder abspielen. Aber allein schon die großartige Harmonie in solchen symbiontischen Konsortien verbietet diese Überlegung. Außerdem beweist die freie Lebensweise der thermoresistenten *Rhizopertha*-Symbionten den Fortbestand des „guten Einvernehmens“ zwischen beiden Bündnispartnern auch in anormalen Situationen. Es sind vielmehr die direkten Einflüsse der ungünstigen Versuchsbedingungen, welche den vorzeitigen Tod der Mikroorganismen herbeiführen. Zwei Beobachtungen im Verlaufe meiner Arbeit lassen sogar erkennen, welche Symbiontenzustände von *Rhizopertha* besonders empfindlich gegen Hitze sind. Wie erinnerlich, zeigten sich die vereinzelt Restsymbionten in den akzessorischen Zellen bei 38° C wiederholt resistenter als die Mycetominsassen¹. Ebenso wurde bei dieser Temperatur der sonst sehr rasch fortschreitende Symbiontenabbau der Männchen deutlich verzögert, während im Gegensatz dazu die Symbionten der weiblichen Imagines starke Schäden erlitten. In beiden Fällen haben wir es mit Bakterien in verschiedenen Leistungszuständen zu tun. Sowohl die Mycetomsymbionten der Larven als auch jene reifer Weibchen sind in aktiver Vermehrung begriffen, wogegen die Restbakterien in den akzessorischen Zellen und die Insassen männlicher Imaginalmycetome sich in offensichtlicher Passivität befinden. Danach zu schließen, reagieren die *Vermehrungsstadien* der *Rhizopertha*-Symbionten besonders sensibel gegen erhöhte Temperatur. Es wäre möglich, daß sich auch damit das Ausleseprinzip für den degenerierenden und thermoresistent werdenden Symbiontenanteil verbindet.

Vermissen wir auch Angaben darüber, ob andere Symbiontenstämme unter den gleichen Umständen bei Wärmeeinfluß degenerieren, so besteht doch eine interessante Parallele zwischen der Wirkungsweise der Hitze auf die *Rhizopertha*-Symbionten und dem Verhalten von Penicillin gegenüber Mikroorganismen. Dieses Antibiotikum erstreckt seine schädigende Wirkung nämlich in erster Linie auf Keime, die sich in Vermehrung befinden.

¹ Dies scheint mit der Tatsache der gegenseitigen Förderung der Symbionten in Widerspruch zu stehen. Wir müssen jedoch beachten, daß wir hier keine vermehrungsaktiven, sondern völlig passive, zum Wirtsorganismus beziehungslos gewordene Mikroorganismen vor uns haben.

Eine Reihe von Temperaturversuchen gibt Aufschluß über die unterschiedliche Temperaturreistenz der in Endosymbiose lebenden Mikroorganismen. Bei *Oryzaephilus* degenerieren sie bei 36° C (KOCH 1936). Wie neuere Untersuchungen von SCHNEIDER (1956) ergaben, kommen die Symbionten von *Calandra granaria* und *C. oryzae* bereits bei 35° C zum Erliegen. Interessanterweise wird damit die Hypothese von KOCH (1936) bestätigt, der die Symbiontenfreiheit der ägyptischen Kornkäferasse, *Calandra granaria* var. *africana*, als eine klimatisch bedingte Erscheinung ansah. Völlig degenerierte Mycetome erzielte FINK (1952) bei *Pseudococcus citri* R. durch kombinierte Hunger-Hitze-Versuche, allerdings erst bei 39° C. Ebenfalls bei 39° C gelang es GLASER (1946), die Symbionten von *Periplaneta americana* auszuschalten. Wenn auch NOLAND (s. M. A. BROOKS 1954) die Versuche GLASERS bestätigt, so steht dennoch der einwandfreie Nachweis über die restlose Elimination der *Periplaneta*-Symbionten noch aus, bauen doch beide Autoren ihre Ergebnisse auf gramgefärbte Fettkörperausstriche auf. Bei dieser Untersuchungsmethode können modifizierte Symbiontenreste leicht der Beobachtung entgehen¹. Schließlich vermögen die Blattidensymbionten der Wärme auch relativ gut zu trotzen. Dies zeigen Versuche von M. A. BROOKS (1954) mit Larven von *Blattella germanica*, wo die Symbionten bei 37° C wohl stark geschädigt und dezimiert, in keinem Fall aber in einer für die Tiere noch erträglichen Zeitspanne der Temperatureinwirkung restlos eliminiert werden konnten. Die nach der Temperaturbehandlung zurückgebliebenen Bakterienreste vermehrten sich wieder bis zur angehend normalen Besiedlung der Mycetocyten. Von einer noch viel größeren Thermoresistenz zeugen die *Rhizopertha*-Symbionten, welche in laufender Generationenfolge durch einen ganz spezifisch hitzebeständigen Bakterienstamm der Temperatur von 38° C widerstehen. Die Anpassung intrazellulärer Symbionten an die Temperaturverhältnisse der Tropen und Subtropen wurde bisher noch nie so offenkundig wie hier.

Daß die Bakterien während der Hitzebehandlung vielfach die Mycetome verlassen und zur freien Lebensweise übergehen, ist zunächst überraschend. Aber auch HEITZ (1927) kam bei *Ernobius abietis* bei Hunger- und Kälteversuchen zu derselben Feststellung des Abwanderns der Symbionten aus den Darmblindsäcken. Natürlich fanden sie dabei nur den Weg ins Darmlumen, wurden aber nicht verdaut, sondern lebend ausgeschieden. Sicherlich war es die durch die ungünstigen Versuchsbedingungen hervorgerufene Störung der normalen physiologischen Wechselbeziehungen, welche, ebenso wie bei *Rhizopertha*, die Pilze zur

¹ Inzwischen ist es E. SELMAIR (nach mündlicher Mitteilung) gelungen, bei *Blattella germanica* völlig symbiontenfreie Tiere durch kombinierte Hitze- und Antibioticaeinwirkung zu bekommen.

Aufgabe des festen Wohnsitzes veranlaßte. Dieses Ausschwärmen fest lokalisierter Symbionten in den Körper des Wirts spielt sich auch dauernd bei einer Vielzahl von Endosymbiosen ab, wenn die Migrationsstadien zur Ovarialinfektion in großer Zahl die Mycetome verlassen.

Eine Vergleichsmöglichkeit bieten uns die frei lebenden *Rhizopertha*-Symbionten mit jenen Mikroorganismen, welche gerade in den Körper eines Tieres eingegliedert werden. Die Hippobosciden mit allen Graden der Vergesellschaftung von noch wenig gezügelten „Mitläufern“ bis zu weitgehend angepaßten Begleitformen sind hierfür ein gutes Beispiel (ASCHNER 1931). Gleiches gilt für die Aphiden, deren Begleitsymbionten nicht nur in den Mycetomen lokalisiert sind, sondern bei manchen Arten auch im ganzen Körper verbreitet sein können. So treten z. B. die akzessorischen Symbionten der beiden trisymbiontischen Formen *Pterochlorus roboris* und *Stomaphis quercus* auch in Lymphe und Fettzellen über (KLEVENHUSEN (1927). Unter den Zikaden besitzt *Aphrophora salicis* mitunter stäbchenförmige Bakterien mit unterschiedlicher Lokalisation (BUCHNER 1925). Bei den Membraciden liegen ähnliche Verhältnisse vor (RAU 1943). Was diese Symbiontenneuerwerbungen mit den thermoresistenten Bakterien von *Rhizopertha* gemeinsam haben, ist ihre entweder ganz ungebundene oder teils freie, teils ortsgebundene Lebensweise, ihre unterdrückte Virulenz und nicht zuletzt ihre Erblichkeit.

Der auffallende Formenwandel der *Rhizopertha*-Symbionten unter den verschiedensten Versuchsbedingungen zeigt weitgehende Analogien zu Bakterienkulturen in vitro (H. BRAUN, ST. BERG, S. KESSLER, P. MAVROIDI 1954). Außerdem darf uns ihre labile morphologische Struktur schon deshalb nicht verwundern, weil sie mit ihrer rosettenförmigen Gestalt auch zu jenen Symbiontentypen zählen, welche als stark modifizierte Bakterien aufzufassen sind. Daß gerade diese bei Störung der regulären symbiontischen Wechselbeziehungen die Tendenz zeigen, in einen ursprünglicheren Zustand überzugehen, ist nur allzu verständlich.

Bemerkenswert ist, daß die Symbionten des Getreidekapuziners nicht nur der Hitze, sondern auch den beiden antibiotischen Wirkstoffen Aureomycin und Terramycin unter denselben Begleiterscheinungen widerstehen. Vollkommen gegensätzlich dazu reagieren in allen diesen Punkten die pflanzlichen Partner von *Oryzaephilus*, *Calandra granaria* und *Calandra oryzae*. Die wenig beweiskräftigen Versuche von MUSGRAVE u. MILLER (1951) mit Terramycin an den beiden letztgenannten Kornkäferarten wurden erst durch die Untersuchungen SCHNEIDERS (1956) berichtigt und erweitert. Nach Untersuchungen von M. A. BROOKS (1954) vermag bei *Blattella germanica* eine Aureomycindosis von 0,1% in einer Diät von gemahlenem Hundekuchen zu symbiontenfreien Tieren

zu führen. Natriumsulfothiazol hingegen brachte bei einer Dosis von 1% im gleichen Medium nur eine sehr unterschiedliche Degeneration zustande, während 0,2% Chloromycetin überhaupt keinen Einfluß auf die Bakterien ausübte¹. Ebenfalls chloromycetin- aber auch aureomycin-resistent, dafür jedoch empfindlich gegen Terramycin reagieren die Symbionten von *Triatoma infestans* (R. GEIGY, L. A. HALFF, V. KOCHER 1954). Schon diese wenigen Fälle lassen erkennen, daß sich mit der Verwendung von antibiotischen Wirkstoffen für die experimentelle Symbioseforschung ein großes Arbeitsgebiet eröffnet hat.

BUCHNER (1953) diskutiert in seinem großen Symbiosewerk in dem Kapitel „Die Wechselbeziehungen zwischen dem Wirtsorganismus und seinen Symbionten“ auch den natürlichen Abbau der männlichen Mycetome und stellt dabei die kausalen Zusammenhänge mit dem Geschehen im tierischen Organismus heraus. Nicht zuletzt veranlaßten ihn vor allem histologisch mehrfach erwiesene Beziehungen zwischen Symbionten und Gonaden dazu, die Degeneration der männlichen Mycetome ebenso wie die Ausbildung der Infektionsformen bei den Weibchen auf eine von den Gonaden gesteuerte hormonale Induktion zurückzuführen. Durch *Oryzaephilus* und ganz besonders durch *Rhizopertha* findet diese Korrelation wieder eine neue Bestätigung. Handelt es sich dabei immer um eine Beeinflussung der Symbionten durch den spezifischen Chemismus des Geschlechts, so konnte BUCHNER (1954) an Hand der afrikanischen Schildlaus *Stictococcus sjoestedti* zeigen, daß auch der umgekehrte Weg beschritten wird. Hier ist nämlich eine Geschlechtsbestimmung insofern gegeben, also sich die mit Symbionten infizierten Eier zu Weibchen entwickeln, während aus allen nicht infizierten rudimentäre, nicht mehr zur Nahrungsaufnahme befähigte Männchen hervorgehen. Noch mehr als dieser bisher einmalige Beweis vom Einbezogensein der pflanzlichen Mikroorganismen in so intime Lebensprozesse der tierischen Partner überrascht die ebenfalls von BUCHNER (1955) jüngst gemachte Entdeckung, daß den Mycetocyten von *Puto* und *Makrocercoccus* sogar eine potentielle Unsterblichkeit eigen ist, welche weitgehend an jene der Geschlechtszellen erinnert.

Wie schwierig es vielfach ist, die auf verschiedenen Gebieten liegenden Leistungen der Symbionten zu ergründen, wird am besten am Beispiel von *Oryzaephilus* deutlich: Schon KOCHS (1936) Versuche, Unterschiede im ernährungsphysiologischen Verhalten symbiontenführender und symbiontisch steriler Tiere herauszufinden, scheiterten an der Tatsache, daß sich beide Tiersorten bei gewöhnlichem Futter ebenso wie bei extrem einseitiger Diät (Kartoffelstärke) und Hungerversuchen völlig

¹ Nach brieflicher Mitteilung gelang es jüngst W. FRANK, die Symbionten von *Periplaneta orientalis* durch Beifütterung und Injektion von Penicillin, Aureomycin und Terramycin zu eliminieren.

gleichartig benahmen. FRAENKEL u. BLEWETT (1943, 1944) glaubten die scheinbar geringeren Ansprüche, welche symbiontenhaltige *Oryzaephili* im Vergleich zu *Tribolium*, *Sitodrepa*, *Ptinus* und *Lasioderma* an den Vitamingehalt der Nahrung stellen, auf die Leistungen ihrer Symbionten zurückführen zu können. Das Fehlen von Thiamin, Pyridoxin und Cholin würde demzufolge das Wachstum der Larven nicht behindern. Weitere Diätversuche von PANT u. FRAENKEL (1954) mit diesmal symbiontenfreien und symbiontenhaltigen *Oryzaephili* mahnen sehr zur Vorsicht, die Leistungen der pflanzlichen Mikroorganismen in diesen Punkten zu überschätzen. Es stellte sich nämlich heraus, daß das früher verwandte Casein nicht vitaminfrei war und auch mit dem unlöslichen Heferückstand noch ausreichende Mengen von Thiamin und Pyridoxin verabreicht wurden. Dennoch schreiben PANT u. FRAENKEL nach diesen letzten Untersuchungen den *Oryzaephilus*-Symbionten eine Beitragsleistung zur Deckung des Vitaminbedarfs von Nikotinsäure, Pyridoxin und Cholin zu. Aus den ernährungsphysiologischen Experimenten von LEMONDE u. BERNARD (1955) geht dies weniger hervor. Ihnen zufolge ist für die Entwicklung der *Oryzaephilus*-Larven Riboflavin, Nikotinsäure, Pantothersäure, Pyridoxin und Cholin unentbehrlich, doch soll die Abwesenheit von Biotin und Folsäure lediglich die Metamorphose verzögern. Da es nicht leicht ist, die Gewißheit zu haben, mit einer wirklich *vitaminfreien* Grunddiät zu arbeiten oder die in ihr noch enthaltenen Vitaminkomponenten zu kennen, sind alle diese Versuche mit einem gewissen Vorbehalt aufzunehmen. Eine letzte Sicherheit in dieser Beziehung bieten nur an Hand des *Tribolium*-Testes (G. FRÖBRICH, u. K. OFFHAUS 1953) überprüfte Ausgangssubstanzen. Leider vermissen wir bis heute auf dieser Basis durchgeführte Diätversuche mit symbiontenhaltigen und symbiontenfreien *Oryzaephilus*-Larven. Selbst wenn es auch dann nicht gelingen sollte, eindeutige Angaben über den Nutzeffekt der *Oryzaephilus*-Symbionten zu machen, sind wir nicht berechtigt, sie schlechthin als Kommensalen oder mehr oder weniger harmlose Parasiten hinzustellen, wozu sich vor allem MANSOUR (1934) und SCHWARTZ (1935) verleiten ließen. Beide glaubten damit ein gewichtiges Argument gegen die Symbiosetheorie BUCHNERS anführen zu können. Es würde zu weit führen, sich an dieser Stelle mit dieser etwas zu voreiligen Folgerung auseinanderzusetzen. Allein schon die Überlegung, daß die Symbiose von *Oryzaephilus* phylogenetisch sehr alt ist und der Käfer erst sekundär zu einem Vorratsschädling wurde, verbietet eine solche Auslegung.

Über die Bedeutung der *Rhizopertha*-Symbionten heute schon etwas Endgültiges aussagen zu wollen wäre verfrüht. Wie aber die Dinge liegen, dürfte es sich bei ihnen um einen ähnlichen Fall handeln wie bei den Symbionten von *Oryzaephilus*. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind

sie gleich letzteren nicht lebensnotwendig, denn ihre Verminderung auf einen so geringen Rest, wie er in den Versuchen erzielt wurde, hätte sonst irgendwelche nachteilige Folgen für das Gesamtfinden der Käfer nach sich ziehen müssen. Niemals konnten aber Unterschiede, weder in der Vitalität noch in der Entwicklung und Vermehrung, zwischen symbiontisch normalen und in ihrem Symbiontenbestand dezimierten Tieren beobachtet werden. Damit ist aber noch längst kein Anlaß dazu gegeben, den Symbionten von *Rhizopertha dominica* jegliche Bedeutung im tierischen Haushalt abzusprechen. Erst wenn es gelungen ist, sie vollkommen aus dem Wirtsorganismus zu eliminieren, können Versuche über ihren Nutzeffekt, soweit wir eben heute dazu rein methodisch überhaupt in der Lage sind, angestellt werden. Diese Aufgabe einer Lösung näher zu bringen, ist das weitere Ziel meiner Arbeiten.

Zusammenfassung

1. Die Entwicklung des Getreidekapuziners, *Rhizopertha dominica* F., verläuft bei 38° C und 85—95% relativer Hydratur noch fast normal, dagegen sterben bei 40° C die meisten Larven schon auf jungem Stadium.

2. Unter dem Einfluß erhöhter Temperatur (38° C) reagiert der größte Teil des Symbiontenbestandes von *Rhizopertha* thermosensibel, während der Rest thermoresistente, morphologisch andersgeartete Wuchsformen entwickelt. Der Schwellenwert für den Beginn der Symbiontenschädigung liegt bei 33° C.

3. Dadurch sind bei 38° C und 85—95% relativer Hydratur beide Mycetome nach Abschluß der Metamorphose bei der Mehrzahl der Tiere stark degeneriert und besitzen nur noch einen thermoresistenten Symbiontenrest, teils sind sie durch die Abwanderung letzterer in den Körper des Wirts auch symbiontenfrei.

4. Die Degeneration der Symbionten und die Abbauprozesse in den Mycetomen sind individuell bedingten Schwankungen unterworfen. Für erstere ist außerdem bei den einzelnen Verfallsphasen eine starke morphologische Variabilität der Involutionsformen bezeichnend; letztere beginnen in der Regel an der Peripherie der Syncytien und schreiten nach deren Zentrum zu fort.

5. Gegenüber den Mycetominsassen zeigten sich die gelegentlich in der „akzessorischen Zellmasse“ auftretenden Restsymbionten wiederholt thermoresistenter.

6. Die Nachkommen von Tieren mit sterilen Mycetomen weisen in der 1., 2. oder 3. Filialgeneration wieder schwach besiedelte symbiontische Organe auf. Dies deutet darauf hin, daß sich thermoresistente Symbionten — ähnlich den Infektionsformen — frei im Wirtsorganismus bewegen und zur Reinfektion der Mycetome der Nachkommenschaft bereistehen.

7. Auch in allen folgenden Generationen sind die vererblichen thermoresistenten Symbiontenformen gegen Hitze beständig. Sicherlich handelt es sich dabei um eine spezifische Anpassung an den Biotop des in den Tropen und Subtropen beheimateten Getreidekapuziners.

8. Unter normalen Temperaturbedingungen (30°C) wandeln sich diese modifizierten thermoresistenten Symbionten wieder in reguläre Knospungsverbände um. Die Wiederherstellung der üblichen Mycetombesiedlung erstreckt sich unterschiedlich lang über mehrere Generationen.

9. Der Einfluß erhöhter Temperatur (38°C) auf den Symbiontenschatz reifer Weibchen führt neben tiefgreifenden Degenerationserscheinungen in den Mycetomen letzten Endes auch zur Ausbildung thermoresistenter Mikroorganismen.

10. Besonders thermosensibel reagieren die Vermehrungsstadien der *Rhizopertha*-Symbionten.

11. Niedere Temperatur schädigt die Symbionten von *Rhizopertha*, jedoch ist durch die beschränkte Lebensdauer der Käfer bei Kälte ($+4^{\circ}\text{C}$) eine genauere Analyse unmöglich.

12. Die antibiotischen Wirkstoffe Aureomycin und Terramycin, welche in verschiedenen Dosen mit der Nahrung verabreicht wurden, führen zu einer extremen Degeneration der Mycetome von *Rhizopertha*. Dabei degeneriert der größte Teil des Symbiontenbestandes, während ein kleiner Anteil desselben sich den Antibiotica anpaßt, d. h. sekundär resistent wird. Der aureomycinresistente Symbiontenstamm ist in laufender Generationenfolge ebenso beständig gegen Terramycin und umgekehrt.

13. Die zeitliche Folge des Symbiontenabbaus in den Mycetomen der Männchen unter normalen Bedingungen wird genau beschrieben. Teilweise macht sich dieser bereits auf dem Puppenstadium bemerkbar. Bei den übrigen Männchen setzt er nach Abschluß der Metamorphose direkt ein und geht dann sehr rasch seinem Ende entgegen.

14. In 2 Fällen wurden bei *Rhizopertha* überzählige Mycetome beobachtet. Einmal unterschieden sich dabei die Symbionten eines Organs in ihrer Färbbarkeit ganz wesentlich von denen der beiden übrigen.

15. Das durch die Temperaturversuche KOCHS in Aussicht gestellte natürliche Vorkommen symbiontenfreier Individuen von *Oryzaephilus* wurde durch einen Zufallsfund bestätigt. 45% der Nachkommen einer Käferkultur aus einem Milodepot besaßen sterile Mycetome. Ursache: Starke Erwärmung des Getreides durch Kornkäferbefall.

16. Auch durch Kälteeinwirkung gelingt es, die Symbionten von *Oryzaephilus* zu eliminieren (bei $+4^{\circ}\text{C}$).

17. Aureomycin und Terramycin wirken bakterizid auf alle Entwicklungszustände der *Oryzaephilus*-Symbionten.

18. Nach Abschluß der Metamorphose unterliegen auch die Mycetome der Männchen von *Oryzaephilus* einer natürlichen Degeneration.

Literatur

Die mit * bezeichneten Schriften standen mir nur in Referaten zur Verfügung.

- *ANDERSEN, K. TH.: Experimentelle Untersuchungen über die Luftfeuchtigkeit als Faktor der Embryonalentwicklung der Insekten. Atti Dell'XI. Congr. Internaz. di Zoologia, Padova 1930. Arch. Zool. ital. **16**, 472—479 (1931). — ASCHNER, M.: Die Bakterienflora der Pupiparen (Diptera). Eine Symbiosiestudie an blutsaugenden Insekten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **20**, 368—442 (1931). — Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus. Naturwiss. **20**, 501—505 (1932). — Studies on the symbiosis of the body louse. I. Elimination of the symbionts by centrifugalisation of the eggs. Parasitology **26**, 309—314 (1934). — ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Eine experimentelle Symbiosiestudie. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26**, 529—590 (1933). — BACK, E. A.: Stored grain pests. U. S. Dept. Agric. Farmers Bull. 1260 **1922**, 1—47. — BACK, E. A., and R. T. COTTON: Biology of the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* LINNÉ. J. Agricult. Res. **33**, 435—452 (1926). — BLEWETT, M., and G. FRAENKEL: Intracellular symbiosis and vitamin requirements of two insects, *Lasioderma serricorne* and *Sitodrepa panicea*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **132**, 212—221 (1944). — BRAUN, H., ST. BERG, S. KESSLER u. P. MAVROIDI: Über die Anormomorphogenese bei Bakterien. Med. Mschr. **7**, 446—456 (1954). — BROOKS, M. A.: Certain aspects of the histochemistry and metabolic significance of the intracellular bodies (bacteroids) of cockroaches (Blattellidae). Diss. Minnesota U.S.A. 1954. — BRUES, CH. T., and R. C. DUNN: The effect of penicillin and certain sulfa drugs on the intracellular bacteroids of the cockroach. Science (Lancaster, Pa.) **101**, 336—337 (1945). — BUCHNER, P.: Studien an intrazellulären Symbionten. V. Die symbiontischen Einrichtungen der Zikaden. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **4**, 88—245 (1925). — Symbiose und Anpassung. Nova Acta Leopold., N. F. **8**, 362 (1940). — Historische Probleme der Endosymbiose bei Insekten. Symposium sur la „symbiose chez les insectes“, S. 143—165, Amsterdam 1951. Tijdschr. Entomol. **95**, (1952). — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel u. Stuttgart: Birkhäuser 1953. — Studien an intrazellulären Symbionten. VIII. Die symbiontischen Einrichtungen der Bostrychiden (Apatiden). Z. Morph. u. Ökol. Tiere **42**, 550—633 (1954). — Endosymbiosiestudien an Schildläusen. I. *Stictococcus sjoestedti*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 262—312 (1954). — Endosymbiosiestudien an Schildläusen. III. *Macrocerococcus* und *Puto*, zwei primitive Pseudococcinen. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 523—577 (1955). — CLEVELAND, L. R.: The effects of starvation and oxygenation on the symbiosis between termites and their intestinal protozoa, together with the toxicity of oxygen for freeliving and parasitic protozoa. Anat. Rec. **29**, 117 (1924). — The effects of oxygenation and starvation on the symbiosis between the termite, *Termopsis*, and its intestinal flagellates. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole **48**, 309—326 (1925). — Further observations and experiments on the symbiosis between termites and their intestinal protozoa. Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Wood's Hole **54**, 231 bis 237 (1928). — *CROMBIE, A. C.: On intraspecific and interspecific competition in larvae of graminivorous insects. J. of Exper. Biol. **20** (2), 135—151 (1944). — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intrazellulären Symbionten von *Pseudococcus citri* RISSO. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 78—146 (1952). — FRAENKEL, G.: The role of symbionts as sources of vitamins and growth factors for their insect hosts. Tijdschr. Entomol. **95**, 183—196 (1952). —

FRAENKEL, G., and M. BLEWETT: The vitamin-B-complex requirements of several insects. *Biochemic. J.* **37**, 686—695 (1943). — *Intracellular symbiosis and vitamin requirements of two insects, *Lasioderma serricornis* and *Sitodrepa panicea*. *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B* **132**, 212—221 (1944). — FRÖBRICH, G.: Die Caseindosierung in synthetischen Diäten für die Aufzucht von *Tribolium confusum* DUV. (Tenebrionidae, Coleoptera). *Naturwiss.* **21**, 556 (1953). — FRÖBRICH, G., u. K. OFFHAUS: Ein neuer Nahrungsfaktor, der die Metamorphose von *Tribolium confusum* DUV. (Tenebrionidae, Coleoptera) ermöglicht. *Naturwiss.* **39**, 575 (1952). — Der qualitative Vitamintest mit dem Reismehlkäfer *Tribolium confusum* DUV. (Tenebrionidae, Coleoptera) als Testorganismus. *Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch.* **5**, 358 (1953). — GEIGY, R., L. A. HALFF u. V. KOCHER: L'acide folique comme élément important dans la symbiose intestinale de *Triatoma infestans*. *Acta trop.* (Basel) **11**, 163—166 (1954). — GLASER, R. W.: The intracellular bacteria of the cockroach in relation to symbiosis. *J. of Parasitol.* **32**, 483—489 (1946). — GRÄBNER, K. E.: Vergleichend morphologische und physiologische Studien an Anobiiden und Cerambycidsymbionten. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **41**, 471—528 (1954). — HARMSSEN, H., u. G. MEINECKE: Die Bedeutung der biologischen Symbioseforschung für die Medizin. *Klin. Wschr.* **1951**, 560—565. — HEITZ, E.: Über intrazelluläre Symbiose bei holz-fressenden Käferlarven I. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **7**, 279—309 (1927). — HERTER, K.: Der Temperatursinn der Insekten. Berlin 1953. — HUGER, A.: Experimentelle Eliminierung der Symbionten aus den Mycetomen des Getreidekapuziners, *Rhizopertha dominica* F. *Naturwiss.* **41**, 170 (1954). — KIEFER, H.: Der Einfluß von Kälte und Hunger auf die Symbionten der Anobiiden- und Cerambycidenlarven. *Zbl. Bakter.* **86** (1932). — KLEVENHUSEN, F.: Beiträge zur Kenntnis der Aphidensymbiose. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **9**, 97—165 (1927). — KOCH, A.: Über die Symbiose von *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera). Vorläufige Mitteilung. *Atti XI. Congr. Internaz. Padova 1930*. — Die Symbiose von *Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae, Coleoptera). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **23**, 389—424 (1931). — Über künstlich symbiontenfrei gemachte Insekten. *Verh. dtsh. zool. Ges.* **1933**, 143 bis 150. — Über das Verhalten symbiontenfreier Sitodrepalaren. *Biol. Zbl.* **53**, 199 bis 203 (1933). — Die Symbiose des Splintkäfers, *Lyctus linearis* G. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **32**, 92—136 (1936). — II. Experimentelle Untersuchungen an *Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae Coleopt.). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **32**, 137—180 (1936). — Über den gegenwärtigen Stand der experimentellen Symbioseforschung. *Verh. des VII. Internat. Kongr. für Entomol. Berlin 1938*, S. 760—771. — 50 Jahre Erforschung der Insektensymbiosen. *Naturwiss.* **37**, 313 (1950). — Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der experimentellen Symbioseforschung. *Symposium sur la „Symbiose chez les Insectes“*, S. 166—181, Amsterdam 1951. *Tijdschr. Entomol.* **95** (1952). — Symbioseforschung und Wachstumsvitamine. *Landwirtsch. Forsch.* **6**, 70—74 (1954). — LEMONDE, A., et R. BERNARD: Aspects nutritifs des larves de *Stegobium paniceum* L. (Anobiidae) et d'*Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae). *Extrait du Naturaliste Canadien* **80**, 125—142 (1953). — *LESNE, P.: La distribution géographique de Coléoptères Bostrychides dans ses rapports avec la régime alimentaire de ces insectes. *C. r. Acad. Sci. Paris* **1903**. — MANSOUR, K.: On the intracellular micro-organisms of some Bostrychid beetles. *Quart. J. Microsc. Sci.* **77**, 243—253 (1934). — On the so-called symbiotic relationship between coleopterous insects and intracellular micro-organisms. *Quart. J. Microsc. Sci.* **77**, 255—271 (1934). — *On the micro-organism-free and the infected *Calandra granaria* LIN. *Bull. Soc. Roy. Entomol. Egypte* **1935**, 290—306. — *MARTINI, E.: Parasitismus in der Zoologie. *Atti XI. Congr. internaz. Zool. Padova 1930*, *Arch. Zool. ital.* **16**, 1299—1314 (1932). — MUSGRAVE, A. J., and J. J. MILLER: A note on some preliminary observations on the effect of the antibiotic terramycin on insect

symbiotic-microorganisms. *Canad. Entomologist* **83**, 343—345 (1951). — PANT, N. C., and G. FRAENKEL: On the function of the intracellular symbionts of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae, Coleoptera). *J. Zool. Soc. India* **6**, 173—177 (1954). — *PARKIN, E. A.: The digestive encymes of some woodboring beetle larvae. *J. of Exper. Biol.* **17** (1940). — *PIERANTONI, U.: L'organo simbiotico di *Silvanus surinamensis* (L.). *Rend. Accad. Lincei* **9** (6) (1929). — Origine e sviluppo degli organi simbiotici di *Oryzaephilus* (*Silvanus*) *surinamensis* L. *Atti Accad. Sci. fis. e mat. Napoli*, Ser. 2a **18**, Nr 4 (1930). — PROFFT, I.: Beiträge zur Symbiose der Aphiden und Psylliden. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **32**, 289—326 (1937). — PUCHTA, O.: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* BURM. *Z. Parasitenkunde* **17**, 1—40 (1955). — RAU, A.: Symbiose und Symbiontenwerb bei den Membraciden (Homoptera, Cicadina). *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **39**, 369—522 (1943). — REITTEK, E.: Fauna Germanica. Die Käfer des Deutschen Reiches, Bd. III. Stuttgart 1911. — RIES, E.: Endosymbiose und Parasitismus. *Z. Parasitenkunde* **6**, 339—349 (1933). — Über den Sinn der erblichen Endosymbiose. *Naturwiss.* **23**, 744—749 (1935). — ROBINSON, F. A.: The vitamin B complex. London 1951. — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — SCHMDT, H.: Die Holzbohrkäfer (Bostrychidae) und ihre forstliche Bedeutung. *Forst u. Holz* **3** (1948). — SCHNEIDER, H.: Künstlich symbiontenfrei gemachte Kornkäfer (*Calandra granaria* L.). *Naturwiss.* **41**, 147—148 (1954). — Morphologische und experimentelle Untersuchungen über die Endosymbiose der Korn- und Reiskäfer (*Calandra granaria* L. u. *Calandra oryzae* L.). Im Druck. — SCHWARTZ, W.: Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien IV. Mitt. Der Stand unserer Kenntnisse von den physiologischen Grundlagen der Symbiosen von Tieren mit Pilzen und Bakterien. *Arch. Mikrobiol.* **6**, 369—460 (1935). — STAMMER, H. J.: Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. *Tijdschr. Entomol.* **95**, 23—42 (1952). — STÖHR, PH.: Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen, 26. Aufl. Jena 1949. — WIGGLESWORTH, V. B.: The principles of insect physiology, 4. Aufl. London 1950. — ZACHER, F.: Die Vorrats-, Speicher- und Materialschädlinge und ihre Bekämpfung, S. 65—66 u. S. 93—94. Berlin 1927. — Haltung und Züchtung von Vorratsschädlingen. In *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. IX, Teil 7. 1933. — Vorratsschädlinge im alten und neuen Ägypten. *Forschgn u. Fortschr.* **10**, 347—348 (1934). — Die Gliedertiere (Arthropoden) der Mühlen und Getreidespeicher in Deutschland. *Mitt. der Ges. für Vorratsschutz*, Sonderh. zum 7. internat. Kongr. für Entomol. 1938. — Der Getreidekapuziner, ein tropischer Getreideschädling in Deutschland. *Mühle* **1951**, H. 51/52.

Dr. ALOIS HUGER, München 2, Luisenstr. 14, Zoolog. Institut der Universität

Autorenverzeichnis des 44. Bandes

- FEKL, W., Die Bakterienflora der Tracheen und des Blutes einiger Insekten. S. 442
- FRANK, W., Entfernung der intrazellulären Symbionten der Küchenschabe (*Periplaneta orientalis* L.) durch Einwirkung verschiedener Antibiotica, unter besonderer Berücksichtigung der Veränderungen am Wirtstier und an den Bakterien. S. 329
- HELLMUTH, H., Untersuchungen zur Bakteriensymbiose der Trypetiden (Diptera). S. 483
- HERTING, B., Untersuchungen über die Ökologie der wildlebenden *Drosophila*-Arten Westfalens. S. 1
- HORSTMANN, H.-J., Untersuchungen zur Physiologie der Begattung und Befruchtung der Schlammschnecke *Lymnaea stagnalis* L. S. 222
- HUGER, A., Experimentelle Untersuchungen über die künstliche Symbiontenelimination bei Vorratsschädlingen: *Rhizopertha dominica* F. (Bostrychidae) und *Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae). S. 626
- IMMEL, R., Zur Biologie und Physiologie von *Reduvius personatus* L. S. 163
- KALLINOWSKY, H., Über den Einfluß exogener Faktoren (Ernährung, Temperatur, Lebensraum) auf Wachstum, Körpergröße und Lebensdauer von *Chirocephalus grubei* DYB. S. 196
- KELLNER, W., Untersuchungen zur symbiontischen Bedeutung der Blinddarmflora der Nagetiere. S. 518
- KUNZE, G., Untersuchungen über die Variabilität zweier Rassen von *Apis mellifica* L. sowie ihrer Kreuzung unter Anwendung der graphischen Form- und Korrelationsanalyse. S. 269
- MÜLLER, H. J., Experimentelle Studien an der Symbiose von *Coptosoma scutellatum* GEOFFR. (Hem. heteropt.) S. 459
- PUCHTA, O., Züchtungsversuche an den Symbionten von *Pediculus vestimenti* BURM., nebst physiologischen und morphologischen Beobachtungen. S. 416
- SCHNEIDER, H., Morphologische und experimentelle Untersuchungen über die Endosymbiose der Korn- und Reiskäfer (*Calandra granaria* L. und *Calandra oryzae* L.). S. 555
- STOLTE, H.-A., Individualität, Lebensdauer und natürlicher Tod der Zooide von *Stylaria lacustris* L. (Blastocystenstudien V.) S. 367
- TRETZEL, E., Intragenenerische Isolation und interspezifische Konkurrenz bei Spinnen. S. 43

